

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y
CIRUGIA BUCOFACIAL

ANALISIS EXPERIMENTAL DE LA ACCION
ESTERILIZANTE Y VITRIFICANTE DEL
LASER DE CO₂ SOBRE LAS
ESTRUCTURAS DENTARIAS

TESIS DOCTORAL

MARIANO DEL CANTO PINGARRON
1994

INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

Los Profesores Doctores D. Manuel Donado Rodríguez y D. José María Martínez González han dirigido el trabajo de investigación realizado por D. Mariano del Canto Pingarrón, y consideran que reúne los requisitos necesarios para su defensa, tanto por los objetivos planteados, su hipótesis de trabajo, material utilizado y metodología empleada, así como por los resultados obtenidos y la discusión consiguiente, siendo las conclusiones pertinentes a los objetivos formulados.

V.º B.º
EL TUTOR (2)

El Director de la Tesis

Edo.:

(fecha y firma)

D.N.I.:

Fdo.:

(fecha y firma)

D.N.I.:

10717106 1273966-E

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

Reunido este Consejo de Departamento, en la fecha abajo indicada, considera que el trabajo de investigación: "Análisis experimental de la acción esterilizante y vitrificante del láser de CO₂ sobre las estructuras dentarias", realizado en este Departamento, cumple los objetivos investigadores del mismo, enjuiciándolo de forma positiva tanto en su planteamiento como en su desarrollo por lo que se le considera que reúne las condiciones para ser presentado como Tesis Doctoral.

Fecha reunión
Consejo Departamento

10-3-94

El Director del Departamento

Fdo.:

(fecha y firma)

MANUEL DONADO

A Lourdes.

A mi hija Alejandra.

A mis padres.

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. D. Manuel Donado Rodríguez, por haberme otorgado su apoyo y su confianza tanto en la realización de ésta investigación como en mi discurrir docente dentro de su Departamento.

Al Prof. Dr. D. José María Martínez González, porque gracias a su amistad, ante todo, a sus enseñanzas, siempre bajo su clara visión de la investigación y la docencia, y a su inagotable capacidad de trabajo, me ha sido posible realizar esta Tesis Doctoral y formarme como profesional y como docente.

A mis compañeros del Departamento, en especial a Miguel Angel Alobera Gracia, Rafael Baca Pérez-Bryan, Luis Blanco Jeréz, y Rafael Gómez Font quienes han compartido conmigo etapas difíciles en la realización de este estudio, ofreciéndome en todo momento su colaboración para la resolución de los problemas que se iban planteando.

INDICE .

INDICE

1.- ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION.	1
2.- HIPOTESIS DE TRABAJO. OBJETIVOS.	11
3.- INTRODUCCION.	19
3.1. Historia y Física láser.	21
3.2. Tipos de láser.	49
3.3. Acciones biológicas del láser CO ₂ .	77
3.3.1. Acciones generales.	81
3.3.2. Acciones sobre los tejidos blandos.	95
3.3.3. Acciones sobre los tejidos duros.	113
4.- MATERIAL Y METODO.	135
5.- RESULTADOS.	193
5.1. Esterilización in vitro.	197
5.1.1. Esterilización in vitro. Descriptiva global.	199
5.1.2. Esterilización in vitro. Descriptiva por grupos.	215

INDICE

5.1.3. Esterilización in vitro.	
Estadística Analítica.	241
5.2. Esterilización in vivo.	261
5.2.1. Esterilización in vivo.	
Descriptiva global.	263
5.2.2. Esterilización in vivo.	
Descriptiva por grupos.	279
5.2.3. Esterilización in vivo.	
Estadística Analítica.	287
5.3. Vitricación. Estudio Microbiológico.	295
5.4. Vitricación. Estudio Estructural.	305
6.- DISCUSION.	335
6.1. Efecto esterilizante.	339
6.2. Efecto vitrificante.	347
7.- CONCLUSIONES.	357
8.- BIBLIOGRAFIA.	361

1 . - ANTECEDENTES

Y

JUSTIFICACION .

Desde la aparición del primer Láser como un instrumento más del arsenal terapéutico de la Medicina y Cirugía con el anuncio de la creación de la luz láser por T. MAIMAN ¹ en 1960, fruto del desarrollo de las investigaciones basadas en la teoría cuántica sobre la materia y la radiación, numerosos estudios han sido realizados por investigadores de todas las disciplinas médicas.

La primera intervención quirúrgica se debe a JAKO ² en laringe de perros; KAPLAN ³ y después BELLINA ⁴ lo usaron en Ginecología.

Los láseres emiten luz que es generada cuando determinados átomos son estimulados de un modo particular. La luz suele ser de una sola longitud de onda, monocromática, direccional y brillante. El láser recibe su nombre en función del material que compone su medio activo, como CO₂, argón, kriptón, rubí, Nd:YAG(neodimio:itrioaluminogranate), Er:YAG (erbio:itrioaluminogranate), etc.

Cada una de estas sustancias produce energía de una longitud de onda electromagnética específica que le otorga características, asimismo específicas.

Los láseres usados en medicina logran sus efectos mediante la absorción de energía por el tejido biológico.

Fundamentalmente disponemos de dos tipos de láseres de aplicación médica:

1.- Láseres de Baja potencia, terapéuticos, blandos o soft-láser, cuya potencia es del orden de miliwatios y que emiten rayos monocromáticos en frecuencias que oscilan del rojo (He-Ne) al infrarrojo (Ar-Ga).

El terreno terapéutico de este tipo de láseres queda encuadrado por numerosos estudios multidisciplinarios en animales y ensayos clínicos, fundamentalmente a fenómenos inflamatorios y cuadros algidos, así como al tratamiento de aftas, miolisis y contracturas musculares, aunque aún hoy

día de modo muy discutido. 5-9

2.- Láseres de Alta potencia. Estos presentan perspectivas bien diferentes.

Emiten rayos de potencias mayores, en el orden de watos, con frecuencias que oscilan desde las 0.5 micras (Nd-Yg) hasta las 10.6 micras del CO₂.

La interacción de una radiación láser con un medio, ya sea inerte o vital, resulta de la coincidencia de la frecuencia propia de la radiación y la frecuencia de absorción del medio que se irradia. Los láseres usados en Medicina, por tanto, logran sus efectos mediante la absorción de energía por el tejido biológico.

En frecuencias de 0.5 micras se sitúa la longitud de onda del láser Argón, que es fuertemente absorbida por la hemoglobina y la

melanina. Es por ello que este láser juega un papel importante en la coagulación y es muy utilizado en Oftalmología, una de las primeras especialidades médicas en hacer uso de los láseres. Su absorción tisular selectiva permite la realización de intervenciones menos invasivas y más conservadoras en tejidos sanos que la cirugía convencional.

Con longitud de onda de 1 micra encontramos el láser Neodimio-Yag, en el que la absorción por la hemoglobina y por el agua es muy débil y su penetración en el organismo es muy grande. Por ello debe utilizarse con muchas precauciones.

En el otro extremo del espectro, hacia 10 micras de longitud de onda se encuentra el láser CO_2 . Su rayo es fuertemente absorbido por el agua de los tejidos vivos. Esta es la base de toda la cirugía con el láser CO_2 . Este tipo de láser aporta un nuevo estilo quirúrgico, tal y como precisa DEYMES 10 : cirugía a distancia, sin contacto manual con el tejido a operar, precisión en la disección tanto en profundidad como en la periferia, y calidad de cicatrización.

La creación del láser de CO_2 en 1970 ha supuesto una fecha clave para el desarrollo de la moderna terapéutica física. A medida que ha transcurrido el tiempo y las aplicaciones del láser de CO_2 se han convertido en rutinarias, ha ido adquiriendo mayor importancia el descubrimiento del norteamericano PATTEL. 11

Desde que hace aproximadamente 30 años la investigación del uso de láseres en odonto-estomatología demostró por primera vez que la energía del láser de rubí podía vaporizar el esmalte y la dentina, su uso se ha venido generalizando. Los primeros láseres tenían dos graves limitaciones; el calor que generaban y que la luz tenía que progresar en línea recta o ser reflejada por un espejo. Estas limitaciones han sido superadas por la investigación y aplicaciones industriales. La tecnología informática permite hoy que la energía láser sea emitida en rápidos impulsos varias veces por segundo, para prevenir la acumulación excesiva de calor. También la transmisión a través de cables de fibra óptica, que permite una mayor facilidad de manejo a nivel bucal. 12

Beneficiándose de estos avances tecnológicos el láser de CO₂ es el más utilizado en el terreno odonto-estomatológico. Emite una luz infrarroja, por tanto invisible para el ojo humano, por lo que se acompaña de otro láser de He-Ne que hace de luz guía para conocer donde se produce el impacto.

Efectos térmicos, eléctricos, fotoquímicos y mecánicos son las formas de interacción entre el haz láser y la materia viva. Autores como LOBENE en 1966 ¹³ y en 1968 ¹⁴; STERN desde 1964 a 1972 ¹⁵⁻¹⁹; LHUISSET en 1980 ²⁰; MELCER desde 1983 hasta 1986 ²¹⁻²²; ANDREANI en 1986 ²³ y MISERENDINO en 1989 ²⁴ han examinado fundamentalmente el efecto térmico del láser de anhídrido carbónico, y BALASTRE en 1975 ²⁵; MIRO en 1984 ²⁶ y CHARLOT en 1986 ²⁷, los efectos eléctricos. SEUX , JOFFRE , BONIN y MAGLOIRE ²⁸, llaman la atención sobre los efectos fotoquímicos y mecánicos de la radiación láser a tener en cuenta a la hora de su utilización.

A nivel odonto-estomatológico los estudios realizados por diversos autores como MELCER J. y MELCER F. 21 22 29, HASSON MERARD , GALITIER 30, BONIN 31, por una parte, y SEUX , JOFFRE, y MAGLOIRE 28 por otra, coinciden en afirmar que el láser de CO₂ produce modificaciones estructurales en los tejidos mineralizados del órgano dentario tales como:

- 1.- Fusión;
- 2.- Recristalización o Vitrificación;
- 3.- Aumento de la dureza;
- 4.- Esterilización.

Para MELCER 32 el láser es indispensable hoy día en la erradicación de focos infecciosos dentarios y peridentarios.

LITOVSKY-OULES y cols. 33 hablan de esterilización de focos apicales después de la apicectomía con una vitrificación dentinaria.

ADRIAN y GROSS 34 utilizaron el láser de CO₂ en la

esterilización de instrumentos metálicos como escalpelos, y HOOKS, ADRIAN, GROSS y BERNIER ³⁵ en limas de endodoncia. Ambos trabajos coinciden en afirmar que el láser CO₂ es un medio efectivo para esterilizar rápidamente instrumental contaminado con bacterias altamente resistentes.

Analizadas estas propiedades y características del láser de CO₂ podemos observar como se abre un abanico de posibilidades en su utilización clínica hacia todos los campos de la odontoestomatología, desde el tratamiento de infecciones dentino-pulpaes, infecciones periodontales, infecciones apicales, hasta todo el amplísimo ámbito de la Cirugía Bucofacial.

La utilización del láser de CO₂ a este nivel admitiendo los efectos anteriormente enumerados proporcionaría al cirujano una mayor seguridad en sus tratamientos. De esta forma creemos justificado el análisis experimental de estos fenómenos con la finalidad de establecer una correcta indicación terapéutica.

2.- HIPOTESIS

DE

TRABAJO.

La Patología Quirúrgica Oral y Maxilofacial se manifiesta en numerosas ocasiones como expresión de afecciones dentarias. Los accidentes infecciosos y traumáticos conllevan una mortificación pulpar que puede considerarse como punto de partida de tales afecciones. 36

Este sufrimiento pulpar conduce a manifestaciones clínicas de tipo agudo, subagudo, o bien de tipo crónico. La causa más común de inflamación periapical es indudablemente la infección bacteriana de la pulpa dentaria como secuela de una caries dental; aunque no debemos de olvidar las periodontitis de causa traumática o por irritación química. El proceso inflamatorio encuentra una fácil vía de propagación a través del orificio apical, extendiéndose a nivel periapical. Del mismo modo, bacterias y/o toxinas invaden esta región. La respuesta de estos tejidos ante tal irritante es, como cualquier otro tejido, una inflamación, de tipo agudo o crónico, simple o supurativa. Como en las demás inflamaciones, la lesión original es aguda y luego se convierte en subaguda o crónica,

para posteriormente volver al estadio de reagudización según la intensidad y duración del estímulo y de la respuesta hística. 37

Estas últimas, inflamaciones de tipo crónico, constituyen una lesión defensiva hiperplásica, de carácter local a nivel apical, en respuesta a una reacción inflamatoria de baja intensidad, pero constante y persistente.

Las alteraciones de esta índole obligan desde el punto de vista terapéutico a la prescripción de tratamientos farmacológicos en primera instancia, para posteriormente mantener actitudes intervencionistas, que en el caso de las infecciones apicales se inician con tratamientos endodóncicos seguidos de controles clínicos y radiológicos posteriores.

A pesar de ello no siempre tenemos garantizado el éxito y las posibilidades de recidiva deben ser tenidas en cuenta. La aparición de imágenes radiológicas compatibles con granuloma siempre despiertan grandes dudas, y así vemos como en el momento actual, los criterios de

diferenciación entre granuloma y quiste no quedan perfectamente definidos. Es, sin embargo, muy importante esta diferenciación, ya que el tratamiento variará según se trate de uno u otro proceso.

Mientras que desde el punto de vista endodóncico es posible la resolución de numerosos casos con granuloma apical, no lo es cuando lo que se presenta radiológicamente ante el endodoncista es un quiste.

A este respecto los trabajos de PRIEBE ³⁸, demuestran que el 52,7% de los granulomas diagnosticados radiologicamente son quistes histológicamente.

Para MELCER y cols. ³² debe considerarse como de alto riesgo de infección focal todos aquellos dientes depulpados, a pesar de que los tratamientos convencionales sean considerados por el profesional como correctos, incluso en los casos en los que radiológicamente pueda corroborarse esta impresión clínica.

Es así, que los tratamientos endodóncicos convencionales, no permiten en el momento actual al profesional tener una completa seguridad en sus tratamientos, que es aún menor en aquellos casos en los que radiológicamente observamos imágenes radiolúcidas periapicales; la búsqueda de nuevos métodos terapéuticos que nos permitan unos tratamientos más satisfactorios se nos plantea como una absoluta necesidad.

La Cirugía Periapical nos enfrenta ante una doble disyuntiva: por una parte conseguir un buen sellado apical que evite la llegada de gérmenes al periápice, y por otra la minuciosa limpieza del foco apical.

A pesar de que la técnica quirúrgica sea correcta no siempre es posible asegurar que estos dos objetivos hayan sido cumplidos, y por tanto que la posibilidad de una recidiva esté completamente excluida.

Si consideramos que el láser CO_2 , al menos de forma hipotética, parece poder transformar las condiciones biológicas locales del periápice y convertirse en un instrumento útil en el tratamiento de focos

apicales, creando una cicatrización físicamente observable (vitrificación) y una esterilización de la dentina radicular infectada, es obvio, que de esta forma podríamos obtener sobre nuestros pacientes un bajo o incluso nulo porcentaje de recidivas en este proceso patológico, lo que desde todo punto de vista resultaría beneficioso.

Basándonos en esta hipótesis, los **Objetivos** que se pretenden conseguir son:

1º.- Confirmar, in vitro, el efecto esterilizante del láser CO₂ sobre el cemento y dentina radicular mediante estudio microbiológico.

2º.- Determinar la potencia mínima desde la que se evidencia el efecto esterilizante del láser CO₂.

3º.- Correlacionar la eficacia esterilizante del láser CO₂ a la potencia determinada por los estudios in vitro, sobre las estructuras dentinarias in vivo, en diferentes patologías periapicales.

4°.- Demostrar in vitro el efecto de sellado del láser de CO₂ sobre el ápice radicular, mediante estudio microbiológico.

5°.- Analizar las variaciones estructurales del cemento y dentina radicular (efecto vitrificante) producidas tras la utilización del láser CO₂ mediante su estudio macroscópico y ultraestructural mediante microscopía electrónica.

3 . - INTRODUCCION .

3.1.- Historia y Física Láser.

Con el inicio del siglo XX Albert EINSTEIN ³⁹ desarrolló las teorías de la emisión de radiación espontánea y estimulada. Trabajos posteriores han ido desarrollando sobre esta base, modelos matemáticos en los que se determinaban los requisitos para la emisión estimulada de radiación, o sea, las bases del LASER: **Light Amplification by Stimulated Emission of Radiations**, amplificación de la luz por emisión estimulada de radiación.

Los primeros sistemas de emisión estimulada de radiación, creados en 1953 mediante el desarrollo de la teoría cuántica se denominaron MASERS ⁴⁰: **Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation**, que puede traducirse por amplificación de microondas por emisión estimulada de radiación; utilizaban haces coherentes de electrones.

Solo unos pocos años más tarde, en el año 1960, Theodore MAIMAN ¹ desarrolló el primer láser, también conocido como maser

óptico, utilizando un tipo de luz que nunca antes había existido, haz de luz coherente, monocromática, intensa y unidireccional.

La Oftalmología fue la primera de todas las especialidades médicas que utilizó la tecnología láser a finales de los años cincuenta a fin de destruir un tumor de la retina en el Hospital Presbiteriano de Nueva York 40 41 . De esta manera la historia del desarrollo del láser queda íntimamente unida a sus aplicaciones en este campo de la Medicina.

Los primeros láseres que se utilizaron eran simplemente fotocoaguladores de cristal de Rubí. Proporcionaban un haz de luz coherente y monocromático rojo. Los inconvenientes de estos primeros láseres hicieron pensar en su abandono inicialmente, ya que:

1º.- La emisión monocromática del láser de cristal de rubí no se producía de manera continua, sino a través de impulsos largos, que inducían fenómenos secundarios consistentes en ondas de choque y de cavitación.

2º.- Teniendo en cuenta su longitud de onda (rojo 680), sus indicaciones quedaban reducidas a la fotocoagulación, que se limitaba en la oftalmología a las células del epitelio pigmentado de la coroides, ya que la longitud de onda no permitía fotocoagular vasos retinianos con luz roja.

3º.- La conformación industrial de los primeros láseres no permitía un manejo adecuado para su utilización con otro tipo de aparatología de forma simultánea. 40

A mediados de los años sesenta se corrigieron algunos de los errores de los láseres de rubí, utilizando la luz azul-verde (480-540) de argón que permite la fotocoagulación de los vasos por absorción de fotones por el color rojo de la hemoglobina, complementario del azul. Estos láseres permitían emisión en continuo (Cw) evitando los nocivos efectos de cavitación así como su montaje simultáneo sobre aparataje oftalmológico convencional.

A partir de 1970 se introduce el principio de la fotodisrupción, consistente en transformar la luz monocromática de un láser, ya no en

calor al contacto con los tejidos, sino en onda de choque limitada, con su efecto mecánico permitiendo la disrupción del tejido en cuestión, sean cuales sean su situación, color, y naturaleza.

Para ello, (recordemos que los equipos de trabajo partían del campo de la oftalmología), hacía falta elegir una longitud de onda capaz de atravesar todos los medios transparentes del ojo y llegar al objetivo sin dañar el resto. El cristal YAG (Yttrium Aluminium Garnett) dopado al neodimio 3, trabajando en la parte visible infrarroja próxima a 1064 nm del espectro se consideró el ideal.

Para neutralizar los efectos térmicos hacía falta acelerar y sobrenaturalizar el fenómeno de la tormenta: rayo seguido de trueno (ondas acústicas). Sustituir la emisión continua (Cw) por impulsos controlados extremadamente breves (10.9 a 10.12 segundos por impulso), lo que provoca una descarga dieléctrica y óptica (OBD) solucionaba el problema. Surgieron así los láseres pulsados YAG, de amplísimo uso en Oftalmología. 42

Más recientemente usando longitudes de onda del rango del ultravioleta muy corto (193 nm), que corresponde a la banda del Argón-Flúor se han conseguido láseres capaces de realizar cortes tan perfectos que superan a los "cuchillos-diamante". 43

Simultáneamente al desarrollo tecnológico de la terapia láser en Oftalmología otros campos de la Medicina han ido incorporándose a los beneficios de su utilización, forzando de esta manera la creación de tipos diferentes de láseres adaptados o ideados de forma específica para cada una de las características del tejido a tratar.

Es así, como a finales de la década de los sesenta surge el láser de Anhídrido Carbónico, descubierto por PATTEL 11, de amplia difusión en Ginecología y Otorrinolaringología, dos de las especialidades que primeramente lo incorporaron a su arsenal terapéutico. (JAKO en 1968, KAPLAN y BELLINA en Ginecología) 2-4.

En 1972, YAHR y STRULLI ⁴⁴, en el laboratorio de American Optical Corporation, comienzan una serie de trabajos experimentales usando como bisturí un láser CO₂ de 20 W de potencia.

Estos trabajos experimentales de cirugía láser permitieron conocer de forma inicial, ciertas características de la luz láser, efectos térmicos y biológicos inmediatos, y evolución posterior.

Modificaciones sustanciales de los primeros prototipos de láseres de CO₂, obra del ingeniero de investigaciones de American Optical Corporation, POLANYI ⁴⁵, permiten su acoplamiento a los microscopios quirúrgicos, facilitando enormemente su utilización en especialidades como la Gastroenterología.

EDLICH ⁴⁶ estudia los efectos del láser de CO₂ sobre la mucosa gástrica de los perros en la Universidad de Minnesota.

GOODALE ⁴⁷ y cols. usan un gastroscopio rígido para el tratamiento de las hemorragias gástricas.

HALL 48 estudia la interacción de la luz láser CO₂ con estructuras como la piel, así como para la resección de tejidos sólidos como el hígado.

STELLAR y cols 49 comprueban los efectos del láser CO₂ en la piel y médula espinal.

Con posterioridad y de forma progresiva la tecnología láser se ha ido introduciendo en Medicina, en el tratamiento de los procesos tumorales como un arma de primer orden. Láseres de Anhídrido carbónico, Neodimio-YAG y Argón tienen ya varios años de aplicación en el campo de la Oncología habiéndose observado efectos paliativos o curativos, que varían en función del tipo de láser, de la potencia empleada y del tejido a tratar.

En Cirugía plástica y Dermatología el láser de CO₂ también está bien establecido.

Lo mismo ocurre con la Neurocirugía, que junto con la Oftalmología es una de las especialidades que más se ha beneficiado de la tecnología láser.

La investigación láser nos permitirá la utilización próxima de láseres de colorantes (DYE laser), de vapor de cobre, o láseres de Olmium y Erblio-YAG, que se prevé ofrecerán muchas facilidades para la eliminación de tumores ampliamente vascularizados y emplazados muy cerca de estructuras funcionales muy delicadas como el cerebro, los nervios craneales o la médula espinal. Asimismo la combinación de láseres de CO_2 con el de Nd-YAG podrá ofrecer ventajas en el tratamiento de otras lesiones.

Con la utilización del láser de Nd-YAG, que por emitir su luz en el infrarrojo cercano penetra muy bien en los tejidos ha surgido el concepto de hipertermia láser 50, que se engloba en la práctica clínica del tratamiento de una extensa gama de tumores malignos. La hipertermia láser se emplea en el tratamiento de tumores localizados en órganos sólidos como hígado, páncreas, próstata, mama y tiroides. Esta modalidad

terapéutica emplea la luz láser a través de fibras ópticas flexibles que se implantan en el tumor, lo que produce un aumento de temperatura en el área inmediata a la fibra sin producir lesiones mayores sobre el tejido vecino.

Hoy día es, por tanto, un afán común de todas las especialidades médicas la investigación, por un lado con el armamentario láser del que disponemos, a fin de establecer con claridad sus indicaciones en cada territorio de la economía y en cada proceso patológico, y por otro con nuevos equipos que surgen día a día con el objetivo concreto de facilitar su manejo y mejorar y ampliar sus aplicaciones terapéuticas.

Es en este ambiente en el que también discurre la Odontoestomatología y más concretamente la Cirugía Bucofacial en el momento actual.

Para entender el mecanismo y las características de la luz láser es imprescindible que nos introduzcamos en la estructura atómica y en la física de las radiaciones electromagnéticas (REM).

La estructura atómica en su concepción actual es fruto de los estudios de BOHR. Este modelo atómico permite comprender los fenómenos atómicos corticales que conducen a la emisión o absorción de energía.

Básicamente el átomo está formado por un núcleo central y una envoltura periférica. En el núcleo reside la masa y la carga eléctrica positiva. La corteza se compone de partículas de carga eléctrica negativa, denominadas electrones, que neutralizan las positivas del núcleo.

En el núcleo existen dos tipos de partículas; protones, con carga positiva y neutrones sin carga. Ambos tienen de masa la unidad y se encuentran en el mismo número en el núcleo, conformando así un átomo estable. Si existe desproporción en uno u otro sentido, se establece un núcleo inestable que tiende al equilibrio mediante la emisión de determinadas partículas (radiactividad).

Los electrones de la corteza giran en torno al núcleo en capas o niveles perfectamente definidos según su escala energética. Cada nivel

contiene un número determinado de electrones, que está en función del número de orden del nivel. Dentro de cada nivel, los electrones adoptan unas órbitas de traslación diferentes, así como un sentido de giro que viene definido por los números cuánticos y que se individualiza en cada átomo.

Para comprender la emisión-absorción de radiación electromagnética por un átomo es importante definir que: 51

- a.- Cada capa o subcapa corresponde a unos niveles energéticos muy precisos.
- b.- Las órbitas electrónicas transcurren obligatoriamente dentro de esas capas o subcapas, en las que la energía permanece constante.
- c.- Las capas más alejadas del núcleo tienen un nivel energético superior al de las cercanas.
- d.- Los electrones pueden desplazarse de unas capas a otras ganando o perdiendo energía, originándose con ello situaciones muy inestables, con tendencia absoluta a volver al estado inicial.

La emisión de luz por un cuerpo se debe a dos procesos fundamentales que están sucediendo en la estructura íntima de los átomos que lo constituyen. En una primera fase de **excitación**, los electrones situados en la órbita más próxima al núcleo saltan hacia una órbita más alejada pasando de un nivel de energía llamado "fundamental" o estado de menor energía, en el que los electrones corticales se disponen ocupando las capas de energía más bajas a otro de superior energía denominado "excitado". Como se trata de un estado inestable, pronto se vuelve al primitivo estado "fundamental" estable, pero a base de liberar una cantidad de energía, un fotón, cuya energía es igual a la diferencia que hay entre la del estado "fundamental" y la del "excitado".

Esta transferencia puede producirse de forma natural y espontánea o bien de forma estimulada. En el primer caso los saltos de electrones desde una órbita a otra tienen lugar de una forma anárquica y asíncrona, dando lugar cada uno de ellos a una emisión de energía en forma de fotones que originan un tren de ondas en el que la frecuencia, la dirección y la fase pueden ser completamente diferentes de las ondas

producidas por otros electrones. El resultado es una luz incoherente como la que recibimos del Sol y de las fuentes de iluminación artificial.

En el segundo caso, en la forma **estimulada**, los electrones que han resultado excitados dan lugar a una luz llamada coherente, de una determinada longitud de onda, es decir, monocromática, cuyas ondas marchan paralelas las unas con las otras y con poca tendencia a diverger. Pero para ello es necesario llevar al estado de excitación a la totalidad de los electrones que forman el material escogido para dar lugar a este tipo de luz, mediante un suministro adecuado de energía que se denomina "bombeo". Un electrón que pasa de un estado de excitación a uno de estabilidad libera un fotón y si éste encuentra en su camino a un electrón en fase de excitación le hace perder su energía, con lo que libera otro fotón. Tanto el primer fotón como el segundo tienen la misma longitud de onda puesto que los niveles de excitación eran exactamente los mismos. Al multiplicarse los encuentros entre fotones y electrones excitados, se obtiene una emisión cada vez más rica en fotones, lo que da lugar a la luz láser.

Para poder enfocar adecuadamente estos complicados procesos de generación de la luz, y las características diferenciales de la luz láser

debemos inexcusablemente acudir a una serie de conceptos físicos impuestos por las teorías corpuscular y ondulatoria.

Las ondas electromagnéticas presentan un comportamiento ondulatorio en su propagación, y sin embargo este comportamiento es corpuscular en su creación o absorción; Esta particularidad ha venido a denominarse doble naturaleza de las radiaciones electromagnéticas.

La radiación electromagnética es una forma de transmisión de energía, no asociada al transporte de materia, que conseguimos explicar hoy día para el estudio de los fenómenos tanto macroscópicos como microscópicos asociados a la misma, mediante la confluencia de los modelos cuántico y ondulatorio.

El modelo ondulatorio aporta una aclaración suficiente a la transmisión de energía electromagnética, y el modelo cuántico explica los fenómenos de emisión y absorción.

El primer modelo plantea a la REM como un movimiento oscilatorio que como tal viene definido por los siguientes parámetros:

1.- Longitud de onda : Distancia entre dos puntos que están en el mismo estado de vibración. Se expresa en metros.

2.- Frecuencia : Número de oscilaciones que pasan por un punto fijo en unidad de tiempo. Se expresa en $1/s$ o s^{-1} .

Por tanto su producto se expresa en m/s (unidad de velocidad); Como sabemos que la velocidad de propagación de las REM en el vacío es constante, $C=3 \cdot 10^8 \text{ m/s} = \text{cte}$, podemos concluir que para cualquier REM, la longitud de onda y la frecuencia son magnitudes inversamente relacionadas entre sí. 52

La teoría corpuscular o cuántica señala que la luz está constituida por unidades de energía elementales que denominamos cuantos o fotones. Su energía es proporcional a la frecuencia de la onda electromagnética de que se trate.

La Energía del fotón se calcula mediante la fórmula de Planck:

$$E = h \cdot \text{frec.}; \text{ en donde } h = \text{cte. universal de Planck} = 6,63 \cdot 10^{-34} \text{ Julios/s.}$$

Como la producción de energía se genera con los fenómenos de desexcitación, regreso de un electrón de un nivel E_B de energía superior a otro E_A de energía inferior, tenemos que $h \cdot \text{frec} = E_B - E_A$. Esta fórmula se conoce como condición de frecuencias de Bohr, y establece un nexo entre el modelo ondulatorio y el cuántico. De ello se deduce que las transiciones de radiación más energéticas corresponderán a longitudes de onda menores o lo que es lo mismo a frecuencias mayores y viceversa, en función de la relación inversa entre ambas magnitudes. 53

Si la energía fotónica que incide sobre un átomo estable es muy baja, la radiación incidente solo podrá en su interacción producir rotaciones moleculares. Esto se denomina transiciones de energía rotacional.

Energías fotónicas superiores producirán vibraciones de las moléculas, originando transiciones vibracionales.

Un aumento de la energía puede originar que un electrón pase a ocupar una órbita más externa o de mayor energía (excitación), y al volver a su nivel inicial estable, emitirá un fotón, cuya energía será, como hemos visto igual a la diferencia entre los niveles electrónicos implicados.(emisión espontanea de radiación).

Energías incidentes superiores llegan a interaccionar con el campo eléctrico del núcleo, sufriendo el electrón un cambio de trayectoria. La diferencia de energía cinética sufrida por el electrón se emite como REM. A este fenómeno se le conoce como reacción de frenado. Si el electrón tiene suficiente energía cinética en su interacción con el núcleo puede llegar a desaparecer, trasladando a un fotón la totalidad de su energía.

Todos estos procesos atómicos dan lugar a formas de REM que corresponden a un rango continuo de emisión que se agrupa en el espectro electromagnético, como veremos a continuación.

En el rango de las traslaciones (cambios atómicos o moleculares producidos por las radiaciones), se sitúan las ondas de radio, TV y radar.

Rangos de energía capaces de inducir rotaciones moleculares, corresponden con las microondas.

Si los electrones corticales vibran por agitación térmica dentro de la subestructura de niveles atómicos, o bien en el caso de moléculas estas modifican sus estados de energía vibracional (vibraciones moleculares), se origina el infrarrojo lejano, banda de frecuencias más bajas de la región óptica. Mientras que si los electrones llegan a saltar entre los niveles de las capas externas del átomo (excitación), se produce ya, lo que conocemos ordinariamente como luz, desde el infrarrojo medio y próximo, pasando por el intervalo visible, hasta el ultravioleta. 52

El espectro se completa con la Radiación X asociada a los saltos electrónicos en las capas internas, originando reacciones de frenado. Este hecho se superpone con la radiación emitida en el reordenamiento nuclear ulterior a su desintegración radiactiva.

Por tanto el espectro electromagnético, queda constituido por el rango total de las frecuencias o longitudes de onda con las que se propaga la REM, presentando las siguientes características: 53

- 1.- Las ondas hertzianas o de radio frecuencia, las de alta frecuencia, se utilizan para calentar tejidos profundos.
- 2.- Las microondas se utilizan en el mismo sentido.
- 3.- Los rayos infrarrojos se usan por su capacidad calorífica.
- 4.- La luz visible, sensible a la retina, tiene una acción biológica no utilizada hasta la llegada del láser.
- 5.- La radiación ultravioleta, se encuentra en el límite entre la radiación no ionizante y la ionizante, con una acción biológica fotoquímica.

6.- Los Rayos X, o zona ionizante del espectro, son usados en diagnóstico o terapéutica.

7.- Los rayos gamma, de mayor poder energético, se utilizan en la radioterapia del cáncer.

Cualquiera de estas formas de REM corresponden con las que hemos denominado como **emisión espontanea de radiación**.

En la naturaleza todos los sistemas tienden a situaciones de mínima energía, en las que son estables, por ello un átomo o molécula que se ha excitado por absorción de energía tiende de modo espontaneo a regresar a su nivel fundamental o de mínima energía. Estos procesos presentan una serie de características fundamentales:

1.-Participan en ellos átomos o moléculas con niveles energéticos diferentes, por lo que la emisión de REM presentará rangos muy variables.

2.- Los fenómenos de desexcitación son totalmente asincrónicos, emitiéndose fotones en momentos muy diferentes.

La emisión estimulada consiste en un proceso por el cual la absorción de un fotón se produce en el momento justo en el que el átomo o la molécula se encuentran aún en estado de excitación.

Dos son, por tanto las condiciones requeridas para obtener un fotón estimulado, por una parte que el fotón incidente se incorpore en estado de excitación atómica o molecular, y por otra que la energía del fotón incidente sea idéntica a la diferencia energética entre los niveles atómicos o moleculares implicados en el proceso.

La interacción de cada fotón estimulado supondrá la incorporación de un nuevo fotón idéntico al inicial, y la pareja resultante, al encontrar otros átomos excitados, podrá originar más fotones en fase con los anteriores hasta producir por multiplicación en cadena una radiación coherente ⁵⁴. Mediante este proceso podemos conseguir una amplificación de la luz.

Esta radiación presenta mayor energía, misma frecuencia y longitud de onda (monocromaticidad) ^{51 54}.

Teóricamente la probabilidad de que un fotón que interacciona con un medio produzca emisión espontánea o estimulada, es la misma, pero en la práctica en cualquier sistema energético existe un predominio absoluto de emisión espontánea frente a la estimulada. Esto es así, ya que los tiempos de excitación atómica son tan cortos que se sitúan en valores de 10^{-8} s., por lo que la posibilidad de que un fotón interaccione con un átomo o molécula en estado de excitación es prácticamente nulo.

Para conseguir un predominio de emisión electromagnética estimulada deberemos conseguir que la población atómica en estado de excitación predomine frente a la población en estado fundamental. Esto se denomina inversión de la población 53 40. Esto se logra mediante un aporte energético exterior (sistema de bombeo).

Teniendo presente los conceptos físicos que hemos venido examinando podemos resumir aquellas condiciones necesarias para conseguir un "efecto láser":

- 1.- Un medio activo susceptible de excitarse.

2.- Una situación de inversión de la población atómica.

3.- Un sistema de bombeo, capaz de crear la inversión de la población. Puede ser de diferentes tipos, y utilizar fuentes de energía variables, óptica, eléctrica, química.

4.- Fotones incidentes con energía igual a la diferencia entre los niveles estable y excitado.

5.- Un resonador óptico, capaz de conferir las características especiales de la luz láser.

El resonador óptico es un dispositivo que permite optimizar al máximo los requerimientos para la producción de luz láser. Permite trasladar los fotones láser producidos por el medio activo de una manera sincrónica originando nuevos sucesos de emisión estimulada de forma favorable.

Este dispositivo consta de un cilindro en cuyo interior se encuentra el medio activo, ya sea líquido o gaseoso, o conforma el propio

medio en caso de ser éste sólido. Los dos extremos del cilindro son paralelos, y uno de ellos es totalmente reflectante para la luz deseada, mientras que el otro es semirreflectante.

El resonador funciona de la siguiente manera:

- 1.- Impedir que la radiación láser emitida escape del medio activo sin aprovechar al máximo la inversión de la población. Produce un factor de amplificación que mejora el rendimiento.
- 2.- Realiza la amplificación para una única dirección de emisión.
- 3.- Logra una verdadera monocromaticidad de la emisión, evitando interferencias que pudieran producirse en algunos medios activos.

Inicialmente todos los átomos del material activo se encuentran en estado fundamental. Al comenzar el sistema de bombeo algunos pasan a una situación de excitación. El primer átomo en desexcitarse emitirá un fotón estimulado que a su vez inducirá nuevos sucesos de excitación en el

medio. Los fotones que siguen una dirección perpendicular a los espejos van siendo estimulante para nuevos átomos. Cuando es efecto de resonancia tenga suficiente intensidad el haz láser emerge por la pared semitransparente del resonador.

Frente a la radiación lumínica producida por fuentes no coherentes, la radiación láser presenta unos caracteres diferenciales:

1º.-Coherencia espacial. Todos los átomos emiten radiación al mismo tiempo, por lo que todas las ondas parten del emisor en concordancia de fase. Consecuencia directa de esta condición es el efecto amplificador de la radiación. La coherencia facilita la aparición de interferencias constructivas en las interacciones fotónicas producidas en el resonador.

2º.-Monocromaticidad o coherencia de frecuencias.

Expresa la identidad de longitud de onda de todos los fotones producidos con una capacidad de discriminación de 10^{-5} .

Todos los átomos efectúan un salto cuántico idéntico pasando

de niveles E_B a E_A en todos los casos. Se consiguen bandas de radiación muy estrechas. Ello da gran eficiencia y modulación.

3º.-Direccionalidad o Colimación. Los fotones estimulados siguen siempre la misma dirección que los estimulantes. Solo pertenecerán al haz láser aquellos fotones que lleven una dirección muy precisa, lo que permite concentrar gran cantidad de energía en una sección muy pequeña (por la elevada fluencia), incluso a gran distancia. Los ángulos de divergencia son muy bajos, oscilando en décimas de grado.

Las tres características citadas de la luz láser, son la base de sus múltiples aplicaciones y de la versatilidad de su uso. En Medicina, sería la coherencia la que hipotéticamente actúa a nivel celular; la colimación u direccionalidad, serían la base de los Láseres quirúrgicos. 40

3.2.- Tipos de Láser.

TIPOS DE LASERES.

Numerosos sistemas láser han sido descubiertos hasta la actualidad, y su número sigue creciendo íntimamente unido a los progresos de la tecnología moderna. Ello facilita un constante fluir de información e investigación científica ampliando sus aplicaciones.

En función del material usado para generar la luz láser podemos dividirlos en:

- 1º.- Láseres de estado sólido: como son el láser de Rubí y el Nd-YAG.
- 2º.- Láseres de estado líquido o de colorantes.
- 3º.- Láseres gaseosos: como el láser de Argón o el de CO_2 , e incluso láser de baja potencia como el de He-Ne.

Todos los sistemas láser contienen básicamente tres elementos:

- 1.- El material láser.
- 2.- Un sistema de bombeo o fuente externa de energía.
- 3.- El tubo láser, formado por una cavidad limitada por espejos. (Figura nº 1)

El material usado para generar la luz es el responsable de la longitud de onda de la emisión láser.

El sistema de bombeo introduce la energía externa dentro del material láser, creando en su interior las condiciones necesarias para que se pueda obtener el rayo láser.

Esta energía puede introducirse de varias formas: mediante un bombeo óptico, utilizando una potente fuente de luz como puede ser la obtenida de un flash-xenón o incluso de otro láser, generalmente de longitud de onda más corta. Este sistema de bombeo óptico es de uso corriente en los láseres que usan materiales sólidos tales como los de rubí o de neodimio-YAG. En el bombeo mediante colisión de electrones se

utiliza la energía obtenida al pasar una corriente eléctrica a través del material láser. Este es el sistema utilizado en los láseres gaseosos tales como los de kriptón y argón. En el bombeo químico se utiliza la energía liberada en ciertas reacciones químicas.

El tubo láser se forma colocando espejos a cada lado del extremo del material láser, siendo uno de los mismos totalmente reflectante y el otro solo parcialmente. El rayo láser se forma por la luz que sale del extremo del tubo donde se colocó el espejo semireflectante.

Las diferencias básicas entre los diferentes tipos de láser son:

40 52

1º.- La longitud de onda del haz láser.

2º.- La conducta temporal de la emisión.

3º.- La eficacia del láser, definida como la razón de potencia del haz para la potencia de lanzamiento.

Los láseres pueden suministrar energía en diversas formas (Figura n° 2); Algunos, como los láseres de argón, suministran su energía en forma de un chorro continuo de fotones y por eso se les llama de onda continua (*continuous wave*) o simplemente CW laser y también *free-running*. Mediante este sistema se obtiene un nivel de energía igual al promedio de la potencia emitida por el láser (potencia medida en watos).

Otros láseres suministran su energía no de una forma continua, sino a impulsos o pulsos. La frecuencia con que se repiten los pulsos de un láser viene dada por el número de los mismos producidos en un período dado de tiempo. Los láseres que trabajan en un modo de pulsaciones normales (*normal pulse mode*) tienen una duración de pulsos que oscila entre unas décimas de microsegundo a unos pocos milisegundos y son conocidos como *long-pulsed* o simplemente *pulsed lasers*.

La frecuencia de los pulsos de un láser puede variarse introduciendo detalles técnicos que cambien la naturaleza de la cavidad óptica en donde se produce la luz láser, de tal manera que el rayo pueda

encenderse y apagarse tan rápidamente como para llegar a conseguir pulsos de una duración de 10^{-9} segundos. A estos láseres se les llama de conmutación Q o *Q-switch*. Aunque la energía total suministrada por estos láseres no es muy grande, el nivel de energía alcanzado en cada pulsación puede ser muy alto.

Existe otro tipo de láseres a pulsaciones en que estas son extraordinariamente cortas y que se les conoce con el nombre de modo cerrado *mode-locked*. Aquí la duración total de cada pulso al igual que en el Q-switch en segundos $^{-9}$, pero cada pulso considerado individualmente está constituido por 6 a 10 picos de duración extremadamente corta del orden de segundos $^{-12}$.

En este tipo de láseres hay que tener en cuenta los siguientes datos:

- 1.- Nivel de Potencia del pulso.
- 2.- Amplitud del pulso en fracciones de segundo.
- 3.- Frecuencia de repetición del pulso.

Hay láseres que pueden actuar de varias formas diferentes, *Free-running/Multimode*, es decir de forma continua (CW), con lo que su acción sobre los tejidos es de modo térmico; *Q-Switch/Multimode*, o de conmutación Q/Multimodo. En este caso el aparato actúa por pulsos y las lesiones producidas en los tejidos son de tipo no térmico o frío; o *Q-Switch/Fundamental mode* o de conmutación Q/Modo fundamental. En el modo fundamental el rayo láser emitido se enfoca para reducir su diámetro y aumentar la coherencia espacial de la emisión. Esto permite alcanzar una gran potencia en el foco con una emisión reducida de energía.

Cualquiera que sea el tipo de láser utilizado se ajusta a una serie de parámetros físicos que debemos de conocer: 52 53

1º.- Unidades físicas.

Las unidades de potencia se miden en Watios por unidad de superficie, es decir, watios por centímetro cuadrado (W/cm^2).

Si queremos expresar las unidades de energía desprendida por la luz láser de un aparato determinado hablaremos de Julios por unidad de superficie (Julios/cm²).

Potencia y Energía son parámetros interrelacionables, ya que sabemos que la potencia de 1 W se obtiene produciendo 1 Julio de energía durante un segundo. Por tanto $1W=1Julio/sg.$

2º.- Parámetros de emisión.

Están ligados a la fuente de emisión láser, no siendo modificables por el operador.

En primer lugar consideramos la Longitud de onda. Dentro del espectro de las radiaciones electromagnéticas, que hemos analizado con anterioridad, la luz láser se sitúa entre el extremo de la banda de los rayos ultravioleta, hasta el extremo de la banda de los rayos infrarrojos.

En segundo lugar hemos de considerar la **estructura espacial del haz de luz láser**. Inicialmente se pensó que la energía se distribuía uniformemente dentro del haz, pero esto no es así. La distribución energética es diferente de unos láseres a otros. Esta queda determinada por la denominada **Modalidad Electromagnética** o **Modo**, que se representa por las siglas **TEM**(*Transversal Electromagnetic Mode*) seguida de dos índices numéricos que indican de que modo transversal se trata.

En Física el término **Modo** o **Modalidad Electromagnética** se utiliza con dos significados distintos según se hable de modo longitudinal o modo transversal. En el primer caso y relacionado con una cavidad resonante, indica la longitud de onda que puede generar un láser, y en el segundo designa la geometría del haz, es decir la forma de su sección, que a su vez depende de la forma de la cavidad resonante.

El modo transversal más bajo se indica con las siglas **TEM₀₀** y es aquel que representa el punto de enfoque (spot) más pequeño posible, que está comprendido entre 5 y 10 micrómetros. Comúnmente se denomina **Monomodo** o **Modo Fundamental (FM)**. Aquellos otros con diámetro de

spot mayor de 20 micrómetros, se les denomina Multimodo (MM) o *Low Order Mode*.

En el FM, el haz del rayo láser tiene un punto de enfoque o spot, lo más pequeño posible, lo que hace que la energía de este punto sea muy grande ya que aumenta de forma inversamente proporcional al cuadrado del diámetro del spot. La distribución de la energía tiene forma de campana de Gauss, con un máximo central para decrecer hacia la periferia.

Por el contrario en el MM o Multinodo la distribución de la energía desde el centro a la periferia es muy irregular.

Se describe una TEM_{01} en la que la energía se distribuye de forma que su máximo se encuentra en dos semicírculos, entre el centro y la periferia.

3º.- Parámetros de Utilización.

Son aquellos parámetros físicos que pueden ser variados a voluntad por el operador. Son los siguientes:

- 1.- Potencia y Energía.
- 2.- Tiempo de aplicación.
- 3.- Distancia de aplicación.
- 4.- Angulo de incidencia.
- 5.- Angulo de dispersión.
- 6.- Fenómenos de reflexión y refracción.

Ya hemos visto como la potencia queda referida como cantidad de energía producida por unidad de tiempo, en relación inversamente proporcional.

Tanto la energía como la potencia están en función de la superficie de aplicación, produciéndose en dicha superficie una mayor o

menor concentración de energía. A esta concentración energética es lo que denominamos Densidad de Energía.

La Densidad de energía se mide en julios por unidad de superficie, es decir la energía aportada por 1 W en el transcurso 1 sg. sobre 1 cm₂ de superficie.

$$D_E = P(W) \cdot t(seg) / s(cm_2)$$

Donde: D_E = Densidad de Energía.

P = Potencia.

t = Tiempo de exposición.

s = Superficie abarcada.

De la misma forma es importante conocer, no solo la cantidad de energía que administramos por unidad de superficie, sino también, el tiempo empleado en aplicar dicha energía. De aquí surge el concepto de Densidad de Potencia, como la Densidad de energía depositada en la unidad de tiempo, o lo que es lo mismo la potencia aplicada por unidad de superficie.

$$D_P = D_E / t \text{ julios/cm}^2 / \text{seg} = W / \text{seg}.$$

Donde: D_P = Densidad de Potencia.

D_E = Densidad de Energfa.

t = Tiempo.

Los láseres terapéuticos o soft-láser presentan una potencia constante, dependiente de cada tipo de aparato. Cada uno tiene su propia potencia de salida, de la que debemos restar aquellas pérdidas producidas por el material de transmisión de la luz láser que usan estos aparatos y que oscila entre un 5 y un 50% en función que la fibra óptica sea cuarzo, sílice o plástico.

Los láseres quirúrgicos suelen asociar un selector de potencia en su consola de mando que oscila entre unos y otros modelos de láser.

El Tiempo de aplicación es un factor regulable por el operador en la consola de mando de los aparatos láser. Su medición puede ser en

minutos y segundos, y suelen asociar un avisador acústico del tiempo transcurrido.

Según que el modo de selección de la aplicación sea de emisión continua, pulso único, o pulsos repetidos, podemos programar el tiempo de actuación y/o la potencia elegida. Tanto en los soft-láser como en los de alta potencia, cuando se utiliza en modo de aplicación CW, la D_E se aplicará sobre la superficie elegida durante todo el tiempo que permanezca activado el pedal del láser. A mayor t , mayor D_E , aumentando también el efecto térmico.

El empleo de un pulso único, significa que se aplica la potencia seleccionada durante un tiempo, también seleccionado previamente, que oscila entre 0.05 y 1 seg. Cada vez que accionamos el pedal se produce un disparo de idénticas características, con igual potencia y durante el mismo tiempo.

Si empleamos pulsos repetidos, de potencia y tiempo seleccionados previamente, con intervalos en general de 1 seg, modulados

por el aparato, el tiempo total de actuación será dependiente del que tengamos accionado el disparador.

La Distancia de Aplicación, es aquella existente entre el centro del área de salida del haz y la superficie de aplicación (superficie sobre la que incide directamente la aplicación del rayo).

En los láseres de baja potencia, existe una dispersión del haz láser dada la necesidad de utilización de fibras ópticas conductoras. Esta dispersión aumenta conforme lo hace la distancia de aplicación, obteniendo aéreas de mayor superficie de aplicación pero con menor densidad de potencia.

En los láseres de alta potencia, la luz procedente del láser es focalizada por una lente para una determinada distancia, diferente para cada aparato. De este modo el máximo de energía se alcanza en un punto. A esta distancia se la denomina Distancia Focal.

A medida que aumentamos la distancia focal, y realizamos una aplicación desfocalizada, aumentamos el área de aplicación pero disminuimos la energía aplicada. A mayor distancia focal, mayor superficie de aplicación y menor D_E .

La mayor o menor superficie abarcada por el haz láser no solo está en relación con la distancia de aplicación, sino también con el ángulo de dispersión o divergencia. Este ángulo es el que forman entre sí los fotones de los extremos más periféricos del haz. En la luz convencional estos ángulos son muy amplios, pero en la luz láser suelen ser muy reducidos, ya que todos los fotones tienen la misma dirección.

Los valores de este ángulo, facilitados por el constructor del láser y la distancia de desfocalización nos permiten calcular la superficie abarcada por la luz láser, y posteriormente D_E y D_P .

En los láseres de fibra óptica el ángulo de dispersión puede llegar a valores del orden de $15-20^\circ$.

En los láseres quirúrgicos, se suele asociar un láser blando de He-Ne coaxial con la focalización y el ángulo de dispersión, que nos permite visualizar en todo momento la superficie de aplicación.

Otro ángulo a considerar es el ángulo de incidencia, que es el formado por la dirección del haz de radiación con la perpendicular a la superficie de aplicación.

La intensidad de radiación que recibe una superficie depende de este ángulo y queda reflejada por la Ley del Coseno de Lambert, según la cual, la intensidad final es igual a la intensidad de origen por el coseno del ángulo de incidencia. Cuando este ángulo es muy pequeño o tiende a 0, su coseno será igual a 1, con lo que la intensidad final será igual que la intensidad de origen.

Por tanto, al realizar aplicaciones perpendiculares conseguimos que la intensidad suministrada sea máxima.

Al incidir una onda electromagnética sobre una superficie que separa dos medios de propagación distintos una parte de la onda sufre una refracción y la restante cambia de sentido, volviendo al medio del que procede, a lo que se denomina reflexión.

Se entiende por refracción la desviación que sufre el tren de ondas electromagnéticas al atravesar una superficie que separa dos medios.

Estos fenómenos se rigen por una leyes de óptica geométrica, denominadas Leyes de Snell de la reflexión y la refracción.

Son de gran importancia a la hora del manejo de las terapéuticas láser, a fin de evitar irradiaciones de zonas no deseadas, así como lesiones oculares del propio operador.

Básicamente son los láseres quirúrgicos o de alta potencia los que centran nuestro interés en Cirugía Bucofacial.

Los láseres de alta potencia que se han utilizado o que siguen vigentes en la actualidad son los siguientes:

1.- Láseres de Rubí. Fueron los primeros láseres que se utilizaron en Medicina. 1

El elemento activo es un cristal de rubí que presenta una estructura de tres niveles de energía, que lo hace ideal para la emisión láser.

Se trata de un cristal de rubí artificial en forma de varilla, compuesto por óxido de aluminio en el que un pequeño porcentaje de los átomos de aluminio se hallan reemplazados por cromo, y rodeado de una lámpara de flash helicoidal.

Emite en el espectro del rojo con una longitud de onda de 694 nm. La emisión de este láser se realizaba por pulsos que oscilaban entre 0.2 y 0.5 msg.

Se les clasifica como láseres de cristal de cuerpo sólido, y están hoy día en desuso.

2.- Láseres de ARGON. Pertenecen al grupo de los láseres iónicos. 53

Este tipo de láseres utilizan los cambios energéticos de átomos ionizados, es decir, que han perdido un electrón de su corteza.

El láser de Argón resulta particularmente útil para fotocoagular los tejidos muy vascularizados o pigmentados, dada su buena absorción por la hemoglobina, al contrario que los antiguos láseres de rubí.

Su longitud de onda está entre los límites de 488 a 514 nm, y permite su utilización en emisión continua o en pulsos controlables por el operador. La longitud de onda es captada por el ojo en forma de una luz azulverdosa. Dicha longitud de onda permite su transmisión fibroptica hasta el lugar de empleo.

Con el láser de Argón es posible conseguir una concentración de energía en un punto focal de dimensiones inferiores respecto al haz del láser CO_2 . En la superficie del tejido puede dispersarse incluso el 40% de su energía; sin embargo, dicha energía se transmite a más de 300 cm a través del agua, es decir, prácticamente no se absorbe por los medios acuosos o translúcidos, de manera que pueden ser atravesados sin producir efectos biológicos apreciables. Esta es una de las razones por las que el Láser Argón se emplea en Oftalmología. 40

3.- Láseres de CO_2 . Constituyen el representante característico de los láseres moleculares. 53

El medio láser es realmente una mezcla de gases, CO_2 , N_2 y He, excitada por una descarga eléctrica.

Es un láser muy utilizado; emite una luz que se sitúa en el espectro en la zona del infrarrojo, y por tanto invisible al ojo humano.

Esta es la razón por la que asocia siempre un segundo sistema soft-láser de He-Ne, que emite una luz roja que se usa como haz guía de impacto para el emisión del láser de CO₂.

La luz láser en la longitud de onda del infrarrojo es absorbida por el agua. Por tanto, y dado que el contenido en agua de los tejidos es del 25 al 92%, su utilización sobre los mismos conduce a la evaporación de los fluidos tisulares y consiguiente destrucción. 54

Estas características le hacen muy adecuado como fotobisturí óptico, dado su efecto de corte sobre los tejidos blandos, que estará en dependencia del tiempo de exposición, potencia aplicada, enfoque del haz y tipo de tejido.

La utilización del Láser de CO₂, recuerda a la del bisturí eléctrico, salvo que no existe contacto alguno entre el tejido y el instrumento.

4.- Láseres de Neodimio-YAG. Pertenecen al mismo grupo que los láseres de rubí, es decir, son de cuerpo sólido. 53 Fueron descubiertos en 1961 por SNITZER 55 y constituyen un sistema moderno de laserterapia, siendo actualmente muy utilizados en Medicina.

Están formados por un cristal de los elementos neodimio, ytrio, aluminio y granate.

La estimulación se realiza con la ayuda de lámparas de tungsteno o halógenos.

Su longitud de onda de $1.06 \cdot 10^3$ nm, caracteriza un haz visible, que es capaz de transmitirse a través de varios centímetros de agua. Su transmisión por fibra óptica es posible.

Los pigmentos absorben energía, pero se dispersa en gran parte a través del tejido. La vaporización del agua exige grandes periodos de tiempo, dada la amplia dispersión de la energía.

Su excepcional capacidad de coagulación se aprovecha para tratar lesiones muy vascularizadas, y su intenso efecto resulta especialmente apropiado para coagular zonas en las que se requiere una destrucción térmica sin reducción de tejido. (Figura nº 3)

**espejo totalmente
reflectante**

**espejo parcialmente
reflectante**

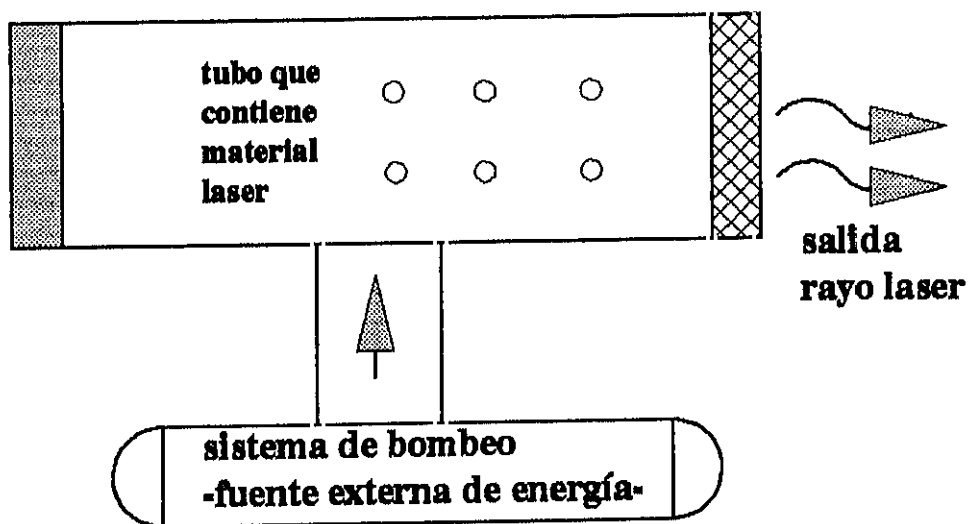


Figura 1: Estructura de un sistema Laser.

TIPOS DE LASERES

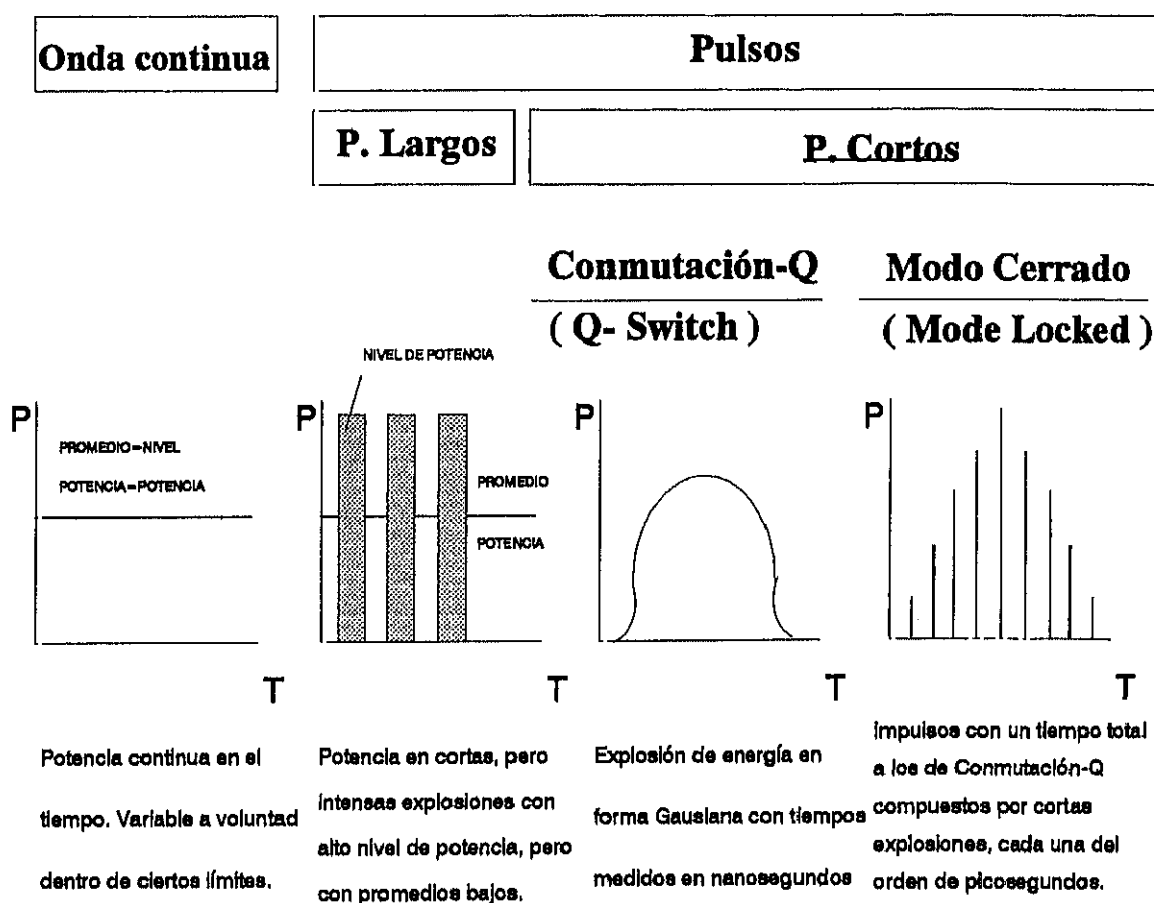


Figura 2: Tipos de Láseres.

CO₂ Nd:YAG

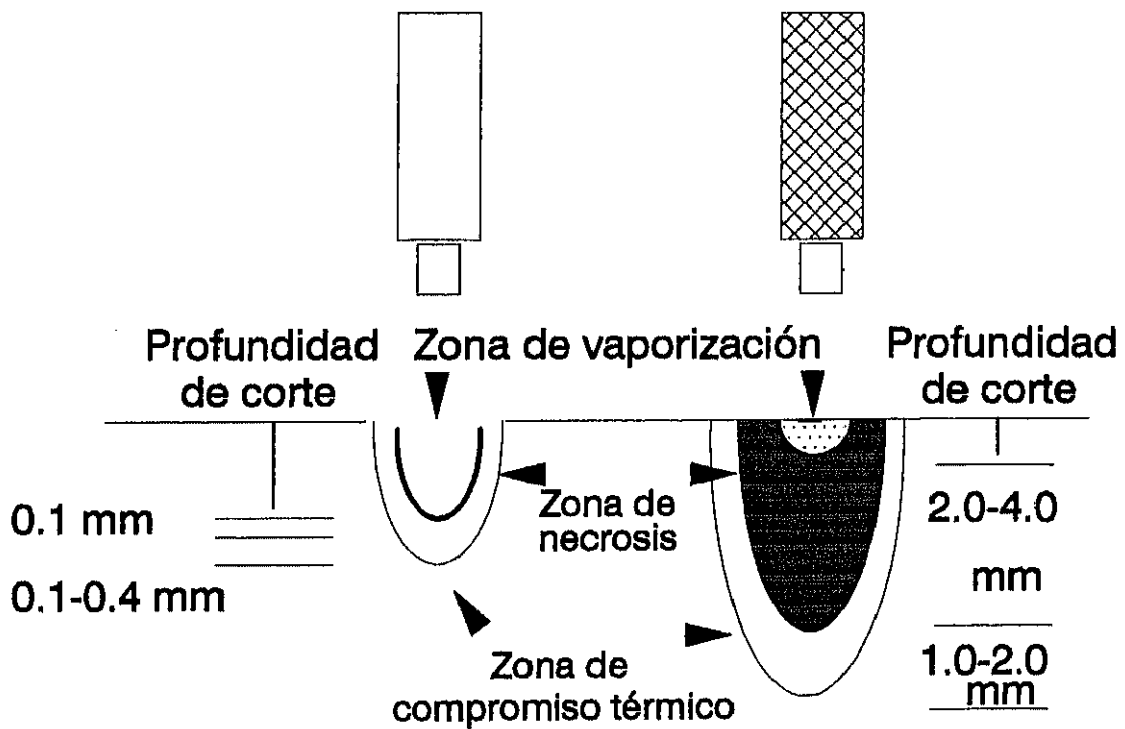


Figura n° 3: Diagrama de los diferentes efectos de un láser de CO₂ y de Nd-YAG sobre el mismo tipo de tejido bucal.

**3.3- Acciones Biológicas
del
Láser de CO₂.**

La forma de interacción de la luz láser con los tejidos biológicos, queda determinada, en primer lugar por una serie de principios físicos y características propias de cada tipo de láser, que hemos analizado en el capítulo anterior, y en segundo lugar, por la forma de absorción de la luz láser por cada medio biológico específico (absorción resonante).

De esta forma las características peculiares de los diferentes tejidos biológicos hacen que la actuación de la luz láser presente aspectos particulares para cada tejido.

De la misma manera, cada tipo de láser, recordemos que emite con longitud de onda determinada tiene una mayor o menor afinidad por cada tipo de tejido y sus acciones biológicas se enmarcan en un ámbito determinado. En nuestro estudio hemos utilizado una fuente de emisión láser de tipo CO₂, por lo que en el presente capítulo vamos a revisar la literatura existente en cuanto a las formas de actuación de este tipo de láseres.

En forma didáctica pasaremos a analizar los efectos biológicos de la luz láser agrupados en los tres apartados siguientes:

3.3.1.- Acciones generales.

3.3.2.- Efectos sobre los tejidos blandos orales.

3.3.3.- Efectos sobre los tejidos duros orales.

3.3.1.- Acciones generales.

3.3.1.- Acciones generales.**3.3.1.1.- Efecto de corte.**

El láser de CO_2 es fuertemente absorbido por el agua, de forma que su acción fundamental se realiza evaporando este agua tisular, lo que conduce en primer término a la desecación, y por tanto a la consecución del efecto de corte. Esto ocurre con densidades de potencia suficientes. 56

Cuando se eleva la temperatura por encima del dintel necesario para conseguir la evaporación del agua de los tejidos, se produce su carbonización.

Este efecto térmico de la luz láser conduce a una vaporización tanto intra como extracelular de todas las capas del tejido, de forma muy controlada, tal y como han comprobado SACHS 57, FISHER y FRAME 58, OUHAYOUN 56, MERCER 59, y TUFFIN y CARRUTH 60.

La utilización del haz lumínico en forma focalizada nos permite conseguir franjas de vaporización de anchura mínima, que podemos aumentar voluntariamente a medida que desfocalizamos. La profundidad varia en función del tiempo y la potencia empleados. 56 59

La reacción de los tejidos blandos depende de la temperatura alcanzada. Entre los 55 y 60 grados centígrados se produce la desnaturalización de las proteínas; entre 60 y 100 grados centígrados hay necrosis por coagulación y a más de 100 grados centígrados se carbonizan los restos tisulares. 61

Los estudios de CHARLOT y cols. 27 han permitido cuantificar con que potencias y tiempos de exposición se altera la membrana basal de la mucosa.

El traumatismo mecánico producido es mínimo, ya que no existe contacto entre el aparato y el tejido. El traumatismo producido es exclusivamente de naturaleza térmica, debido a la gran temperatura.

Aparece por tanto una zona de carbonización en los puntos de incidencia del rayo. Concentricamente un área mayor de desnaturalización o afectación térmica, una zona isoterma de 58 grados centígrados y el resto del tejido no afectado. 21

El efecto de vaporización depende por tanto de la energía que capta el tejido irradiado y esa cantidad de energía la medimos en términos de densidad de energía, es decir cantidad de energía administrada por centímetro cuadrado.

Para conseguir una determinada densidad de energía, desde un punto de vista teórico podemos lograrlo o bien con alta potencia y poco tiempo de exposición de la zona a tratar o una menor energía y mayor tiempo. Sin embargo, MELCER 21 demostró que el área de lesión térmica que no es útil terapéuticamente va en función directa al tiempo de exposición pero no depende de la potencia. De forma que para reducir el área de lesión y administrar la misma densidad de energía debemos utilizar tiempos bajos y por tanto potencias altas.

La penetración del fotobisturí láser sobre los tejidos de la cavidad oral encuentra una respuesta directamente proporcional a medida que aumenta la potencia empleada. Paralelamente la rapidez de corte del láser CO₂ resulta mayor a medida que aumenta la potencia utilizada, tal y como se desprende de los estudios de BACA y cols. 62

Para MEJER y cols. 30 por una parte y VERSCHUEREN 63 64 por otra, la vaporización tisular conduce a la formación de un vapor sin células viables ni componentes celulares.

Para TUFFIN 60 pequeñas partículas de restos celulares vuelan en el haz láser, y se queman produciendo incandescencia, depositándose alrededor de la zona de impacto láser.

3.3.1.2.- Efecto Hemostático.

El Efecto hemostático es una de las características más importantes de este arma terapéutica.

El haz de luz láser CO_2 produce un sellado de los vasos sanguíneos con diámetros que oscilen entre 0.5 y 1 mm, o menor, tal y como se aprecia en los trabajos de CHARLOT 27 , ADRIAN 66 , MESTER y SPIRY 67 , BASU y FRAME 68 , FISHER y FRAME 69 , y VINCENT 70 .

Para FISHER 58 la formación de un coágulo de proteínas desnaturalizadas sería la causa principal de este efecto hemostático. Para CHARLOT 27 tiene gran importancia la reducción significativa del tejido conectivo circundante.

Esta ausencia de sangrado hace que el láser de anhídrido carbónico sea muy útil en el tratamiento de lesiones con tendencia al sangrado, o en pacientes especiales con alteraciones en los procesos de coagulación. 62

Sin embargo, este efecto de coagulación puede verse contrarrestado cuando las necesidades quirúrgicas requieren intervenciones de mayor profundidad, tal y como señala BACA y cols. 62

Nos parece oportuno destacar en este apartado las investigaciones de KAMINER y cols. 71 Compararon las incisiones realizadas con láser CO₂, bisturí quirúrgico estéril convencional en cirugía bucofacial y electrobisturí, realizadas sobre 48 hámsteres Sirios machos. Se extrajo sangre mediante punción cardíaca a los 20 minutos de realizada la incisión de 1 cm. en fondo vestibular. La sangre fue inoculada en un medio de agar sangre, aeróbica y anaerobicamente durante 4 días. Los resultados sugieren que existe un grado importante de bacteriemia después de practicar la electrocirugía o con el uso de un bisturí convencional, mientras que la cirugía con láser no produce bacteriemia.

Si el efecto hemostático del láser CO₂ le convierte en un arma terapéutica de primera elección en aquellos pacientes con alteraciones sistémicas de la coagulación, que la cirugía láser no produzca bacteriemia amplia aún más su ámbito terapéutico hacia aquellos pacientes que precisan tratamientos antibióticos profilácticos antes de cualquier manipulación quirúrgica, y especialmente antes de manipulaciones quirúrgicas en la cavidad bucal.

3.3.1.3.- Efecto de no estimulación de edema, dolor e inflamación.

La creación de un área desnaturalizada perilesional y el mínimo traumatismo mecánico del tejido, se han invocado como causa de la menor inducción de inflamación y edema de la zona quirúrgica postoperatoriamente. 72

Se produce una desnaturalización de las proteínas celulares y extracelulares que hacen que no se liberen los mediadores químicos de la inflamación 58 , lo que justificaría el menor edema e inflamación de este tipo de incisiones.

Para algunos autores como FISHER y cols. 58 la fina capa de colágeno desnaturalizado que se observa en la superficie del área tratada con láser actúa como un impermeable que cubre la herida en el período postoperatorio inmediato y disminuiría el grado de irritación tisular por el medio oral. La marcada diferencia en extensión e intensidad del infiltrado

de células inflamatorias que existe en las heridas quirúrgicas producidas con láser y las producidas con un bisturí convencional, y la demora en la formación de un coágulo fibrinoso superficial en la zona tratada con láser sostienen esta hipótesis.

La ausencia de dolor se ha atribuido a las mismas causas que la ausencia de inflamación y edema y al sellado de las terminaciones nerviosas, como señalan KLEIN 73 , SLUTZKI 74, y CARRUTH. 75

3.3.1.4.- Efecto sobre la reparación tisular.

A la falta de inflamación, dolor y edema hay que añadir una mínima o incluso nula tendencia a la formación de cicatrices retráctiles, lo que ha convertido al láser de anhídrido carbónico en un instrumental de elección en la cirugía laríngea. 65 72

En las incisiones realizadas con láser sobre la mucosa bucal se ha puesto de manifiesto histológicamente una menor presencia de

miofibroblastos y colágeno, siendo la regeneración epitelial más retardada e irregular, así como también una menor tendencia a la contracción de la herida. 58

En el conectivo se observa que los vasos se encuentran ocluidos bajo la superficie y aunque las papilas conectivas estén respetadas, se observan alteraciones del colágeno que adquiere un aspecto homogéneo y vítreo.

Histológicamente se produce una fragmentación de la queratina, formación de vacuolas y degeneración hidrópica de la capa basal. 66

En la piel del cerdo se ha observado que la capa epitelial reparadora aparece más precozmente con el uso del láser. 76

Sin embargo los estudios de JOSSET 77 indican un menor aumento del número de capilares en la fase de curación temprana.

El infiltrado inflamatorio es más lento que en la incisión con bisturí convencional. 78

Por tanto la tendencia a formar cicatriz es menor con el uso del láser 79 y el posible retraso cicatricial se debería a la necrosis de los bordes de la incisión. 80

FRECHE y DRWESKI 81 aseguran que la reacción inflamatoria es mínima y que la cicatrización general es excelente aunque algo retrasada; explican el retraso de la cicatrización en la mucosa oral como consecuencia de la carencia de contracción de la herida.

BACA y cols. 62 , realizando un estudio comparativo entre incisiones realizadas con fotobisturí láser y bisturí convencional han demostrado que la evolución macroscópica de las heridas producidas con fotobisturí láser de anhídrido carbónico, refleja una ausencia de retracción cicatricial, que no se produce en aquellos casos en los que la incisión se realiza mediante técnicas convencionales. Asimismo, microscópicamente no ha encontrado diferencias significativas sobre la respuesta inflamatoria

entre las heridas producidas por láser CO_2 y bisturí convencional; e histológicamente la respuesta cicatricial obtenida tras la aplicación de ambos métodos muestra durante los primeros días una mayor celeridad con el bisturí convencional, obteniéndose un estado similar de cicatrización cuando el estudio comparativo se realiza a los treinta días.

BLANCO y cols. 82 han estudiado la influencia de diversos materiales de sutura en el patrón cicatricial de las incisiones de la mucosa bucal realizadas con láser CO_2 . De este trabajo se deduce que las incisiones realizadas con fotobisturí láser en la mucosa bucal pueden ser tratadas con materiales de sutura mejorando su evolución clínica con respecto a aquellas otras que se dejan cicatrizar por segunda intención. Asimismo sugiere la utilización de Maxon frente a seda trenzada.

Este mismo autor comprueba que el patrón cicatricial histológico no se ve alterado por la utilización de materiales de sutura, que justifican su utilización tras incisiones con láser CO_2 , por disminución de la contaminación precoz de la herida por alimentos. A pesar de ello el patrón macroscópico cicatricial cursa también por segunda intención, como

en aquellos casos en los que no se sutura la herida, al producirse una precoz dehiscencia de las suturas.

Para BLANCO la utilización de adhesivos tisulares como los cianoacrilatos permiten disminuir significativamente el tiempo de sutura consiguiendo un aspecto postoperatorio inmediato satisfactorio de la incisión, si bien la breve duración de la función adhesiva, no modifica desde el punto de vista clínico la evolución de la lesión comparándola con lesiones dejadas cicatrizar por segunda intención.

**3.3.2.- Acciones sobre
tejidos blandos orales.**

3.3.2.- Efecto sobre los tejidos blandos orales.

Todas las características genéricas que hemos venido examinando, relativas a sus peculiaridades en el efecto de corte, sus propiedades hemostáticas, la falta de dolor, edema e inflamación, la especial idiosincrasia reparativa, así como la ya comentada ausencia de bacteriemia tras incisiones con fotobisturí láser y la consecución de una esterilización instantánea de la zona operatoria. 83 KEANE y ATKINS 84, y CHARLOT y cols. 27 han convertido al láser CO₂ en un recurso casi revolucionario en el campo quirúrgico de la cirugía oral, introduciendo dos nuevas dimensiones:

- * La fotocoagulación por láser,
- * La volatilización de tejidos.

Uno de los grandes campos de aplicación del bisturí láser CO₂ es el de la *extirpación de tumores y tumoraciones benignas de la cavidad oral.*

FRAME 85 ha publicado su experiencia en la extirpación de 43 lesiones benignas de la cavidad oral entre las que incluye hiperplasias mucosas producidas por prótesis, mucocelos y ránulas, adenomas pleomorfos, papilomas, granulomas piógenos, pólipos fibroepiteliales, hemangiomas y fibromas.

ABT 86 ha realizado la extirpación de hiperplasias epiteliales inflamatorias producidas por decúbito de prótesis mal ajustadas. Son intervenciones quirúrgicas muy sangrantes debido a la extensión y vascularización de las lesiones, que sin embargo bajo la utilización de un fotobisturí láser se controlan perfectamente consiguiendo un procedimiento exangüe y un postoperatorio ausente de dolor.

POGREL 87 señala que la vaporización de este tipo de lesiones hiperplásicas evita los inconvenientes de pérdida de profundidad del vestíbulo bucal que tiene lugar tras cirugía convencional, y las molestias y retracciones que aparecen tras el uso de injertos.

En este mismo sentido LUOMANEN ⁸⁸ indica que la ausencia de hemorragia, esterilización del área quirúrgica, pronta cicatrización y mínimas molestias postoperatorias y tiempo quirúrgico hacen que este procedimiento pueda considerarse de elección en la terapéutica de estas lesiones.

Cuando la lesión asienta en tejido muscular el fotobisturí láser presenta alguna ventaja adicional sobre el electrobisturí, consistente en la ausencia de calentamiento y contracción muscular, lo que facilita el tratamiento reduciendo el dolor postoperatorio. ⁸⁹

MODICA ⁹⁰ comunica un caso de granuloma piógeno de lengua que fue resecado mediante bisturí láser, señalando la comodidad, precisión y sencillez del procedimiento, la mínima pérdida hemorrágica y el excelente postoperatorio.

En este mismo sentido se manifiestan los trabajos de BEN-BASSAT y cols. ⁹¹

MARTINEZ GONZALEZ y cols. 92 concluyen que el láser produce prominentes fenómenos alterativos con degeneración vacuolar, espongiosis del epitelio y necrosis por coagulación del tejido muscular y conectivo, aunque con menor hemorragia superficial e intersticial que en el corte con bisturí convencional.

En este sentido, estos mismos autores presentan estudios histológicos en resecciones experimentales de lengua utilizando distintas potencias y constatan la gran capacidad de sellado vascular, así como un cierto retraso en la reacción cicatricial.

Las hiperplasias gingivales producidas por hidantoínas en paciente epilépticos, son lesiones muy frecuentes, muy extensas y muy sangrantes en su remoción quirúrgica convencional. Numerosos autores han introducido el bisturí de CO₂ como terapéutica de elección para estos procesos patológicos. 22, 93-96

Todos ellos señalan entre las ventajas más importantes la ausencia de hemorragia, mínimo tiempo quirúrgico y mínimas molestias postoperatorias.

ABT 86 lo ha utilizado inicialmente de forma desfocalizada para eliminar la hiperplasia y posteriormente de forma focalizada para restaurar la arquitectura normal de los contornos gingivales.

Es particularmente interesante el caso publicado por HYLTON 97 en el que realizó una gingivectomía por hidantoinas en un paciente afecto de la enfermedad de Stuger-Weber, mediante fotobisturí láser en zonas anteriores y electrobisturí en zonas posteriores, obteniéndose un resultado más satisfactorio en aquellos sectores tratados con láser.

El efecto hemostático del láser le convierte en un instrumento extremadamente útil para la resección de hemangiomas. 98

DI BARTOLOMEO 99 señala su eficacia tanto en angiomas congénitos vinosos, hemangiomas como en anomalías vasculares.

KAPLAN y cols. 100 101 lo han utilizado para la extirpación de un hemangioma cavernoso de labio superior.

SHAFIR y cols. 102 , para la extirpación de un hemangioma cavernoso en mejilla.

OSHIRO 103 , APFELBERG 104 y CLOUET y cols. 105 , han comprobado que la pérdida hemorrágica tras la resección de los hemangiomas con láser es mínima, garantizando una comodidad operatoria y un buen curso postoperatorio.

En otro sentido, la utilización del bisturí láser en pacientes con coagulopatías se ha demostrado como la terapéutica de elección.

CHOUARD 106 , LEVINE y cols. 107 , HEFTI y cols. 108 y STELLAR y cols. 49 han informado como la cirugía láser en hemofilias benignas permite actuar sin terapéuticas complementarias en muchos casos. La hemorragia queda reducida considerablemente por coagulación de lo

pequeños vasos de los bordes de la herida. Se produce un efecto de *ahorro sanguíneo*.

La utilización del fotobisturí láser CO₂ en forma desfocalizada permite la vaporización tisular superficial, con lo que podemos eliminar lesiones que ocupan gran extensión en la mucosa oral, con poca profundidad.

FRAME 109 110 ha indicado su utilización para la extirpación de lesiones benignas, premalignas o cancerizables y malignas de la mucosa oral, siendo la leucoplasia una espléndida expresión de las mismas.

En este mismo sentido se encaminan los resultados obtenidos por MARTINEZ GONZALEZ y cols. 111

MELCER y OUHAYOUN 22 y POGREL 87 han eliminado frenillos bucales, considerando la limpieza, rapidez y falta de sangrado como las principales ventajas del procedimiento.

De forma similar, MARTINEZ GONZALEZ y cols. 112 confirman la facilidad y rapidez del procedimiento, máxime teniendo en cuenta la importancia de ella dada la edad media de los pacientes en que se realiza este tipo de intervenciones.

Asimismo estos autores 113, indican que existe una disminución estadísticamente significativa de los diastemas interincisales tras su resección mediante láser CO₂.

POGREL, 87 SACHS, 57 ANDREANI 23 y otros 114 han realizado vestibuloplastias, resecciones de papilomatosis recidivantes y otros tipos de lesiones blandas de la mucosa oral, coincidiendo en las cualidades hemostáticas, la ausencia de contracción muscular y la bondad del postoperatorio.

Estos resultados se confirman también por MARTINEZ GONZALEZ y cols. 115

Las hipotéticas propiedades de la terapéutica láser de evitar la diseminación de células neoplásicas, junto con la propiedad de sellar los vasos linfáticos, ha llevado a multitud de autores a utilizarlo en el tratamiento de las lesiones cancerizables y tumores malignos de la cavidad bucal.

CHU y cols. ¹¹⁶ han comunicado el tratamiento de 38 lesiones leucoplásicas con diagnósticos histopatológicos que abarcaron desde hiperqueratosis hasta carcinoma in situ, y su seguimiento posterior durante cinco años, observándose un porcentaje de recidiva del 10.8%, y un porcentaje de transformación maligna del 2.6%, justificándose de esta manera la indicación terapéutica del láser de CO₂ para este tipo de lesiones orales.

FISHER ⁶⁹ y PICK ¹¹⁷ lo han utilizado en una gran variedad de lesiones de la mucosa oral, desde liquen plano erosivo y leucoplasias hasta lesiones blancas por candidas. Para estos autores la cirugía de las lesiones de tejidos blandos orales mediante láser presenta innumerables ventajas sobre las técnicas convencionales.

HORCH ¹¹⁸ publicó en 1986 un estudio realizado sobre 46 pacientes con lesiones cancerizables que incluían líquenes planos, léntigos malignos, leucoplasias multicéntricas e incluso carcinomas in situ. En todos los casos se realizó biopsia previa de la lesión, realizándose posteriormente su escisión mediante bisturí láser utilizando potencias entre 15 y 20 W, de forma desfocalizada.

Después de treinta y siete meses de seguimiento la tasa de recidiva fue aproximadamente del 22% en las leucoplasias y el carcinoma in situ y del 13% en el resto de las lesiones.

Concluye este autor que el láser CO₂ puede recomendarse como alternativa a los procedimientos convencionales en el tratamiento de las leucoplasias y lesiones premalignas, incluso en aquellas áreas de difícil manipulación.

Para FRAME y DAS GUPTA ¹⁰⁹ el fotobisturí láser CO₂ tiene ventajas con respecto al bisturí convencional y a la crioscopia en el tratamiento de estas lesiones, especialmente cuando son muy extensas. La

precisión en la destrucción tisular con mínimo daño a las estructuras vecinas y el escaso sangrado que permite una muy buena visibilidad, así como una mínima o nula contracción cicatricial postoperatoria lo configuran como un instrumento de gran utilidad.

En este mismo sentido se manifiesta FLYNN y cols. 119 que consideran que hoy día los resultados son alentadores como alternativa a la resección quirúrgica de las lesiones mucosas cancerizables de la cavidad oral.

Para EVANS y cols. 120 la escisión es mejor que la vaporización sobre todo cuando la naturaleza histológica de la lesión es dudosa.

FRAME 121 también prefiere la escisión quirúrgica a la vaporización, ya que con la primera es posible realizar un estudio anatomopatológico.

CARRUTH 122 123 y PANJE 124 publican su experiencia en la resección lingual y otras zonas de la cavidad oral y orofaríngea respectivamente, por neoplasias malignas. Ambos autores coinciden en que el láser CO₂ es un bisturí de alta precisión, poco sangrante y que conlleva una morbilidad extremadamente baja para el paciente con poco dolor, lo que acorta el número de analgésicos consumidos y su estancia en centros hospitalarios.

En este mismo sentido se manifiesta NAGORSKY 125 y SIDEROV. 126

El escaso componente inflamatorio y edematoso y la alta precisión del corte del fotobisturí láser han animado a autores como AVELLANEDA y cols. 127 a utilizarlo en el tratamiento de patología laríngea, obteniendo buenos resultados.

A nivel experimental numerosas investigaciones han pormenorizado todas las cualidades del láser de anhídrido carbónico, con la finalidad posterior de su aplicación clínica.

Con el propósito de estudiar el láser CO_2 y establecer los datos básicos de la respuesta de varios tejidos orales al láser por un lado, y evaluar, por otro, su viabilidad de empleo, ADRIAN 66 realizó un estudio experimental sobre la lengua, mucosa labial y encía del macaco Rhesus.

Utilizó impactos de 0.5 seg. de duración a 5, 10 y 20 W de potencia.

Desde el punto de vista clínico, se pone de manifiesto una pequeña producción de humo y/o vapor en el momento del impacto que se controla bien mediante un aspirador quirúrgico.

Macroscópicamente, en las superficies de mucosa más laxa se aprecia una depresión central en el área del impacto, lo que no se hace tan evidente en encía. No hay sangrado durante el acto quirúrgico.

Inmediatamente después del impacto se presenta un cráter plano, con márgenes elevados, con restos de carbonización en el suelo y

bordes del cráter. El margen lesional presenta un halo de tejido blanquecino de 1 mm de anchura.

FISHER y FRAME, 58 ha realizado un estudio comparativo de la reparación de la herida producida en la mucosa bucal canina con bisturí láser y técnica quirúrgica convencional.

El estudio histológico realizado concluyó que la cicatrización es satisfactoria, con un comportamiento diferente en función del tipo de herida examinado. Las incisiones quirúrgicas con bisturí convencional se contraen considerablemente, apareciendo unos márgenes sobrellevados que se aplanan con el tiempo.

Las heridas láser presentaron una mínima contracción, apreciándose como los bordes de la misma siempre permanecieron en el mismo plano del tejido adyacente.

Los estudios inmunohistológicos de LUOMANEN y VIRTANEN, 128 sugieren un menor acumulo de capilares en las heridas

láser en comparación con las heridas realizadas mediante bisturí convencional.

El examen microscópico nos presenta una infiltración celular inflamatoria mucho más retrasada. 78 129

La ausencia de miofibroblastos justificaría la ausencia de retracción tisular. 130 131

En este sentido se manifiestan GABBIANI y cols. 132 ,
RUDOLPH 133 y MAJNO. 134

MARTINEZ GONZALEZ y cols. 92 135 han publicado un estudio en que se realizó una valoración comparativa entre glosectomías parciales realizadas con láser y con bisturí convencional sobre perros; las conclusiones a las que llegan indican como las secciones producidas con láser son exangües, siempre que no afecten a vasos de mediano calibre. Anatomopatológicamente la aplicación del láser conlleva una degeneración vacuolar, espongiosis del epitelio y necrosis de coagulación del tejido

muscular y conectivo. En los fenómenos exudativos del proceso inflamatorio inducido por la glosectomía convencional comprueban una hemorragia intersticial de mayor entidad que en la sección con rayo láser.

En los fenómenos regenerativos encuentran una significativa diferencia en cuanto a la proliferación epitelial que está presente ya a las veinte y cuatro horas, observando un aumento manifiesto del número de mitosis en el epitelio próximo a las zonas de la incisión con bisturí convencional, siendo menor su número cuando la incisión fue realizada con bisturí láser.

Por último en los fenómenos regenerativos, en cuanto a la proliferación de tejido de granulación, yemas vasculares, fibroblastos y fascículos colágenos, no se encuentran diferencias entre las dos técnicas quirúrgicas.

**3.3.3.- Acciones sobre
tejidos duros orales.**

3.3.3.- Acciones sobre los tejidos duros orales.

Simultáneamente a su utilización en cirugía se comenzaron las investigaciones para la aplicación de la tecnología láser a todos los campos de la odontología.

De esta manera STERN y SOGNAES en 1964 y 1965 15
16, GOLDMAN en 1965 136 y STERN y cols. en 1966 y en 1972 17 19
publican sus estudios sobre la acción del láser en estructuras dentarias.

Progresivamente han ido apareciendo multitud de trabajos experimentales y clínicos que podemos agrupar en los siguientes apartados:

3.3.3.1.- Efectos del láser sobre el esmalte y la dentina.

3.3.3.2.- Efectos del láser sobre la pulpa.

3.3.3.3.- Aplicaciones del láser sobre hueso.

3.3.3.4.- Empleo del láser quirúrgico en infecciones

periapicales.

En este último apartado se contemplan dos vertientes diferentes, por un lado la esterilización de las estructuras afectadas por el granuloma o quiste periapical y por otro mejorar el sellado apical responsable del problema, bien mediante las propiedades del láser sobre la dentina radicular, bien mediante su acción combinada con otros materiales de sellado apical.

3.3.3.1.- Efectos del Láser de anhídrido carbónico sobre el esmalte y la dentina.

Los primeros estudios en este campo corresponden a LOBENE en 1966 y 1968 ^{13 14}, en los que tras la aplicación de impactos con un bisturí láser de rubí de 6.934 Å de longitud de onda sobre el esmalte de dientes humanos extraídos, llega a la conclusión de que la afectación del mismo se limita a la zona de impacto, observable con microscopía óptica, y demostrando por los cambios de birrefringencia a la luz polarizada, donde se sugiere la ruptura de los prismas del esmalte.

Estos cambios serían debidos a tres factores:

- * luz reflejada, esparcida o absorbida,
- * vibraciones sónicas o ultrasónicas,
- * alta presión y temperatura.

SCHEININ y KANTOLA 137 iniciaron en 1968 un profundo estudio del efecto de la radiación láser sobre el esmalte y la dentina.

Utilizaron un bisturí láser de CO₂ de 50 W de potencia publicando entre 1968 y 1973 los resultados siguientes:

- Efecto del rayo láser sobre el esmalte. 137
- Estudio microrradiográfico y con luz polarizada del esmalte y la dentina. 138
- Estudio de los cambios en el contenido de fósforo y calcio en la dentina. 139
- Microanálisis por sondeo electrónico y microscopía con luz polarizada del esmalte dental. 140

- Estudio con difracción de rayos X del esmalte y la dentina. 141 142

Tras estos estudios, los autores indican como el láser es capaz de fundir y vaporizar la superficie del esmalte, apareciendo en los bordes de la zona del impacto parte de la estructura fundida recondensada, formando unos bordes sobrellevados.

Existe un aumento del contenido mineral en la superficie del esmalte además de una considerable desmineralización por debajo de la superficie.

En la dentina se observan dos capas hipermineralizadas concéntricas.

Por estudios de microrradiogramas han comprobado que el contenido en calcio en la zona más central es un 15 a un 18% mayor que en la dentina normal y el fósforo un 13 a un 16 % mayor.

En la capa hipermineralizada más externa el aumento del calcio es de un 6 a un 9% sobre la dentina normal, mientras que el fósforo lo es entre un 3 y un 6 %.

A igualdad de energía láser aplicada sobre la dentina y el esmalte el cráter producido en la primera es más definido, debido posiblemente al contenido orgánico más elevado de esta.

Por estudios de difracción de rayos X han demostrado que los efectos inducidos por el rayo láser llevan a una recristalización y crecimiento del tamaño del cristal de hidroxiapatita del esmalte dental, mientras que en la dentina se obtiene una estructura que viene a parecerse a la cristalina de la hidroxiapatita del esmalte normal.

KURODA ¹⁴³, en un estudio similar al de KANTOLA obtiene resultados en el mismo sentido, e indica como la solubilidad ácida del esmalte irradiado es menor, haciéndole, por tanto más resistente a los ácidos.

STERN y SOGNNAES ¹⁶ estudiaron el efecto que produce sobre el esmalte dentario una exposición intensiva de un haz láser enfocado y puntual. Bajo estas condiciones se produce un cráter con un fondo punteado y un labio redondeado. El esmalte del labio del cráter adquiere una apariencia vidriada.

Los resultados de LOBENE ¹⁴, corroboran estos hallazgos y confirman la aparición de un esmalte vidriado y opaco tanto en la zona de irradiación como en las zonas adyacentes.

Se produce una disrupción de las estructuras prismáticas del esmalte con destrucción de la sustancia interprismática.

La dentina también presenta cambios severos, justificados por las altas temperaturas que alcanza el esmalte por efecto de la luz láser.

En esta línea, un estudio de PALAMARA ¹⁴⁴, muestra como el esmalte dental sometido a temperaturas elevadas, entre 200 y 600 °C, presenta un cristal de hidroxiapatita pobremente compactado, debido a

fallos en su formación, cambios en la birrefringencia de algunas áreas y alteraciones en la morfología del cristal.

Las aplicaciones clínicas que estos efectos de la luz láser tiene sobre el esmalte y la dentina han ido encaminadas hacia diversas finalidades:

1º.- Por un lado, la producción de cráteres e irregularidades sobre la superficie del esmalte puede ser útil como sistema retentivo en odontología conservadora, y en tratamientos quirúrgico-ortodoncicos, como las tracciones dentarias. 145 146

LIBERMAN 147 ha demostrado que la fuerza de unión del composite al esmalte tras grabado ácido y pretratamiento con láser son similares.

2º.- Por otro lado, los cambios en la estructura adamantina que aumentan su dureza pueden afectar a la solubilidad ácida como hemos

visto anteriormente 16 143, lo que podría conferir una mayor resistencia frente a la caries.

En este sentido se orientan los trabajos de LOBENE 13, no solo aumentando la resistencia del esmalte sino relleno por fusión los hoyos y fisuras de la superficie dentaria, eliminando de esta forma las zonas más susceptibles a la caries. Se busca por tanto un efecto puramente profiláctico.

Este mismo autor ha intentado fundir hidroxiapatita sintética sobre agujeros y fisuras del esmalte usando un láser de CO₂, con resultados poco alentadores. 14

MISERENDINO en 1989 24 ha medido el aumento de temperatura que sufre la cámara pulpar tras ser irradiado el esmalte con láser de CO₂, sugiriendo una relación lineal entre el aumento de temperatura en el interior de la cámara y el tiempo y potencia utilizados.

La utilidad práctica que el láser de CO₂ puede tener en odontología conservadora se ha enfocado hacia la vitrificación del fondo de las cavidades cariosas una vez eliminada la caries por procedimientos convencionales, con lo que se conseguiría hacer más resistente la cavidad a las recidivas. 148 149

Buscando este mismo efecto de vitrificación dentinaria, puede ampliarse su campo de aplicación a nivel apical, consiguiendo mejorar el sellado de las técnicas endodóncicas o quirúrgico-endodóncicas convencionales.

La acción de fusión del láser queda reducida a un espesor de 20 a 30 micras. 141

MELCER 29 32 resume los efectos del láser sobre las estructuras dentarias en los siguientes:

1º.- Modificación estructural de la dentina y creación de una barrera cristalina (vitrificación).

2º.- Elevación de la microdureza superficial.

3º.- Aumento de la resistencia a la disolución ácida.

4º.- Esterilización.

SEUX 28, señala algunos efectos yatrogénicos por mala utilización del fotobisturí láser, como son fracturas incisales, por desconocimiento de potencia y tiempo de aplicación, en función del volumen dentario a irradiar.

3.3.3.2.-Efectos de la irradiación láser sobre la pulpa dentaria.

En el estudio realizado por MELCER Y CHAUMETTE 150 sobre la pulpa dentaria viva en monos y perros han observado la formación de dentina secundaria reaccional tras la aplicación de láser de anhídrido carbónico, de forma similar a la que tiene lugar después de pequeños procesos inflamatorios.

Esta formación de dentina reaccional está vinculada a la densidad de energía emitida dentro de un tiempo dado. Por encima de estos parámetros se produce una necrosis tisular

SHOJI ¹⁵¹ indica que los resultados más favorables se obtienen cuando se utilizan altas potencias, 60 W por un período de 0.5 seg. y desfocalizado.

Para STERN ¹⁸, los cambios que se producen en la pulpa tras la irradiación de la superficie del esmalte con láser de CO₂ son mínimos y reversibles cuando la densidad de potencia aumenta de 60 julios a 250 julios por cm².

MISERENDINO y cols. ²⁴ por una parte y POWELL y cols. ¹⁵², por otra en sendos estudios sobre la respuesta pulpar a la irradiación láser mediante onda continua, coinciden en afirmar que los efectos térmicos pulpaes son mayores que con la utilización de modos pulsátiles.

3.3.3.3.- Aplicaciones de láser CO₂ sobre el hueso.

Debido al bajo contenido en agua del tejido óseo el efecto de corte del fotobisturí láser sobre el hueso es menos eficaz que sobre tejidos blandos. 153

Otro hecho a destacar, es que el tejido óseo tolera muy mal el aumento de temperatura.

En los trabajos experimentales de SMALL y cols. 154 , realizando osteotomías sobre tibia de conejo indican la lentitud para la realización del corte del hueso mediante bisturí láser. La osteotomía con fresa es más rápida y ofrece mayor control por la sensación táctil. La médula ósea sangra menos al ser incidida con láser.

Para CLAUSER 155 se obtienen mejores resultados cuando se utiliza el láser en la modalidad de superpulsos rápidos que en onda continua.

Estos mismos resultados son comunicados por CLAYMAN y cols. 156 , que recomiendan la utilización del láser para la cirugía ósea de precisión, cuando la visibilidad del campo operatorio es esencial, debido a sus cualidades hemostáticas.

A pesar del calor producido en el hueso por el rayo láser el daño celular solo abarcaría a tres o cuatro células de espesor a partir de la zona incindida.

El efecto del rayo láser sobre el hueso mandibular ha sido estudiado por PANOSSIAN y cols. 157. Para una misma duración de la exposición, la profundidad de la penetración aumenta en función de la potencia hasta 25 W. Por encima de esta potencia los efectos no varían en profundidad, pero sí en extensión.

Estos autores consideran la utilización del láser CO₂ en el tratamiento de la osteorradionecrosis con el fin de obtener una esterilización del lugar de la exéresis y por tanto una barrera contra la propagación de la infección.

Considerando la cicatrización ósea cuando se ha realizado la osteotomía con bisturí láser, la totalidad de los autores están de acuerdo en que esta se produce más lentamente que cuando se utilizan métodos convencionales de fresa o disco. 154 158 159 No se recomienda su empleo en las osteotomías.

Por otro lado, parece ser que la utilización del láser pulsado puede aportar ventajas tanto en el corte como en la cicatrización, respecto a la onda continua. 154 155 156

Esto podría explicarse de manera que la utilización de potencias elevadas mediante pulsos repetitivos nos aporta grandes densidades de energía puntuales, reduciendo los efectos térmicos indeseables en la periferia de la zona a tratar.

3.3.3.4.-Empleo del láser quirúrgico en infecciones periapicales y cirugía periapical.

Las propiedades ya examinadas del láser de anhídrido carbónico sobre esmalte y dentina, así como hueso alveolar, adquieren un significado particularmente interesante en el tratamiento de procesos infecciosos periapicales.

La presencia de rarefacciones apicales, que conducen al fracaso del 50% de los tratamientos endodóncicos, ¹⁶⁰ y la existencia de conductillos accesorios laterales, que contribuyen al mal resultado quirúrgico ¹⁶¹, máxime si tenemos en cuenta que tan solo el 21% de los casos presentan una coincidencia entre el foramen apical y el apex radicular han invitado a numerosos autores a buscar en el supuesto efecto vitrificante de la dentina, y por otra parte en el efecto esterilizante a nivel tanto dentario como óseo, del láser de CO₂ las soluciones a priori definitivas para los objetivos quirúrgicos de la Cirugía Periapical.

El sellado del ápice radicular y los conductillos accesorios, y la esterilización del cemento/dentina radicular y hueso alveolar periapical infectados son objetivos fundamentales de estos procedimientos terapéuticos.

En este sentido WEICHMAN en dos trabajos consecutivos en 1971 y 1972, consideró la posibilidad de utilizar el láser de CO₂ en el tratamiento endodóncico con la finalidad de producir un sellado apical bien mediante tratamiento por vía externa, bien intracanalicular, utilizando un conductor de la luz láser semejante a la fibra óptica para llevar la energía al ápice radicular. 162 163

Las dificultades técnicas y de procedimiento y lo poco satisfactorio de estos trabajos animaron a otros autores a dirigir sus investigaciones por otros caminos.

Así MELCER J. y cols. 30, en 1982 propone la utilización del láser CO₂ en el tratamiento de los focos periapicales para esterilizar la dentina radicular infectada y sellar los conductos radiculares principal

y accesorios, evitando con ello la recidiva de la lesión y la diseminación de los gérmenes.

MELCER y cols. 29 , analizan los resultados de la aplicación láser periapical en 168 casos que presentaron focos apicales tras 1 año de evolución, no observando recidivas lesionales en ningún caso, y siendo verificada radiológicamente una reparación ósea total en el 23% de los casos y parcial en el 45%.

LITOVSKY y cols. 33 , describen en 1988 un protocolo de actuación en focos apicales mediante la utilización de láser de CO₂. Tras la intervención quirúrgica convencional emplean el láser para sellar el ápice radicular y esterilizar el área periapical.

MISERENDINO 164 en 1988 ha utilizado el láser en el mismo sentido, obteniendo ventajas en la esterilización y remoción del ápice radicular infectado, así como en la viabilidad del campo operatorio por el escaso sangrado.

En este mismo sentido se encaminan las conclusiones que obtienen PICK y MISERENDINO en 1989 ¹⁶⁵, y ZAKARIASEN y cols. en 1990. ¹⁶⁶

DEDERICH y ZAKARIASEN ^{167 168} han aplicado láser de Neodimio-YAG en la pared del conducto dentario a cielo abierto, demostrando que con potencia y tiempo suficiente se puede producir la cristalización de la pared dentinaria radicular, que se vuelve no porosa, sin solución de continuidad, con reducida permeabilidad para los líquidos.

BONIN y cols. ³¹ analizan las modificaciones estructurales producidas a nivel cemento-dentinario en función del tipo de láser utilizado, CO₂, Argon o Nd-YAG.

MYERS ¹² asegura que en el futuro el láser cerrará los ápices radiculares y facilitará el uso de materiales de relleno endodóncico.

HOOKS y cols. ³⁵ han conseguido esterilización de limas de endodoncia contaminadas con bacterias altamente resistentes.

ADRIAN y GROSS 34 comunican la esterilización de instrumental metálico mediante irradiación láser CO₂.

DUCLOS 169 emplea un espejo de rodio que se adapta a la pieza de mano del aparato láser y permite el acceso a la región periapical logrando la esterilización periapical por volatilización.

4 . - MATERIAL Y MEDODO .

El presente trabajo se ha realizado en el Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial, en la Unidad Docente de Cirugía Bucal y Maxilofacial y en los Laboratorios de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, así como en las dependencias del Servicio de Anatomía Patológica (Microscopía Electrónica) del Hospital Clínico Universitario San Carlos.

A.- MATERIAL.

El material empleado en la realización del mismo podemos agruparlo en:

- 1.- Material de laboratorio.
- 2.- Recursos humanos.
- 3.- Material quirúrgico.
- 4.- Material físico.

4.1. Láser CO₂.

4.2. Lupa Estereoscópica de Wild.

4.3. Microscopio Electrónico.

5.- Material Complementario.

1.- MATERIAL DE LABORATORIO.

Las muestras utilizadas para el estudio microbiológico correspondieron a dientes unirradiculares (incisivos, caninos y premolares unirradiculares), tanto mandibulares como maxilares superiores.

La obtención de estos dientes se realizó en aquellos pacientes que de forma habitual acuden al Servicio de Exodoncia de la Unidad Docente de Cirugía Bucal y Maxilofacial de la Facultad de Odontología de Madrid.

Los dientes así obtenidos se distribuyeron en tres grupos:

*** Grupo A:** Fueron utilizados en la primera fase experimental, cuyo objeto específico fue la confirmación del efecto esterilizante in vitro del Láser de anhídrido carbónico.

Tamaño de la muestra: 95 dientes.

*** Grupo B:** Conjunto de la muestra utilizada en la segunda fase de la experimentación, cuyo objeto específico fue la confirmación del efecto esterilizante in vivo del Láser de anhídrido carbónico. Tamaño de la muestra: 66 muestras.

*** Grupo C:** Fueron utilizados en la tercera fase experimental cuyo objetivo específico fue la demostración del efecto de sellado apical del láser de anhídrido carbónico. Tamaño de la muestra: 93 dientes.

*** Grupo D:** Fueron utilizados en la cuarta fase experimental cuyo objetivo específico fue la confirmación del efecto vitrificante y de las modificaciones estructurales de la dentina radicular mediante microscopía electrónica y lupa estereoscópica. Tamaño de la muestra: 45 dientes.

El Material de estudio microbiológico consistió en:

1.- Tubos de recogida de muestras. Preparados con un medio de enriquecimiento, Thioglicolato modificado con hemina y vitamina K₁. (Figura nº 4)

El medio Thioglicolato modificado con hemina y vitamina K₁ es de uso general en procedimientos cualitativos de cultivo de microorganismos de complicado y no tan complicado crecimiento, incluyendo bacterias aerobias y anaerobias de amplia variedad clínica y de materiales no clínicos.

Este medio de enriquecimiento de thioglicolato está recomendado para cultivos de gérmenes de lento o complicado crecimiento y obligado en microorganismos anaerobios presentes en materiales o muestras clínicas.

De la misma manera se recomienda para el cultivo de una gran variedad de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos.

Este medio está preparado con *anaerobic head space* y va provisto de un tapón a rosca en cada tubo acorde con las recomendaciones del CDC (Centers for Disease Control).

La hemina y la vitamina K₁ se han mostrado necesarias para el crecimiento de ciertos microorganismos anaeróbicos.

El Thioglicolato de Sodio es un agente reductor que mantiene en el medio una baja tensión de oxígeno. La vitamina K₁ se requiere para el crecimiento de microorganismos como el *Bacteroides Melaninogénicus*, y otras especies de *Bacteroides* y *espiriformes gram positivos*. La hemina es el factor de estimulación de crecimiento de numerosos microorganismos.

FORMULA del medio de enriquecimiento (por litro de agua):

Digerido de caseína pancreática	17.0 gr.
Papaic Digest of Soybean Meal	3.0 gr.
Dextrosa	6.0 gr.
Cloruro Sódico	2.5 gr.
Thioglicolato Sódico	0.5 gr.
Agar	0.7 gr.
L-Cistina	0.25 gr.
Sulfito Sódico	0.1 gr.
Hemina	0.005 gr.
Vitamina K ₁	0.001 gr.

pH final 7.0 \pm 0.2

El crecimiento de microorganismos en los tubos del medio Thioglicolato enriquecido se demuestra por la aparición de turbidez en comparación con el control. Una vez demostrado crecimiento debe cultivarse en un medio selectivo o no selectivo en placa, bien para aerobios, o bien para anaerobios.

MATERIAL Y METODO.



Figura nº 4: Medio de enriquecimiento: Thioglicolato modificado con hemina y vitamina K₁

2.- Medios de cultivo en placa para aerobios y anaerobios.

Para la confirmación del crecimiento bacteriano en el medio líquido thioglicolato enriquecido hemos utilizado:

a.- COLUMBIA AGAR BASE, con la adición de un 5 a un 10% de sangre de oveja. Este medio es un magnífico nutriente para el cultivo de microorganismos de difícil y no difícil crecimiento, así como multitud de microorganismos presentes en muestras clínicas y materiales no clínicos. (Figura nº 5)

FORMULA DEL MEDIO (por litro de agua destilada o desmineralizada):

Infusión de músculo cardíaco bovino	37.5 gr.
Triptosa o tiotona digerido péptico	
de tejido animal USP	10.0 gr.
Cloruro de Sodio	5.0 gr.

Agar	15.0 gr.
------	----------

Las placas preparadas con COLUMBIA AGAR BASE van suplementadas además con un 5-10% de sangre de oveja.

pH final 7.3 ± 0.2

La sangre de oveja permite la detección de reacciones hemolíticas y suple al factor X hemático necesario para el crecimiento de muchas especies bacterianas. En ausencia de factor V la presencia de la enzima NAD-asa destruye el NAD. Es por esta razón que el *Haemophilus influenzae* no crece bien en este medio si no se suplementa con factor X y factor V.

b.- AGAR SANGRE ANAEROBICO CDC, o SCHAEGLER**AGAR:**

Es un medio selectivo para el crecimiento y recuperación de microorganismos anaerobios. Suplementada con vitamina K₁ y sangre de oveja se convierte en un excelente medio para el cultivo de gérmenes de complicado crecimiento como los *bacteroides*. (Figura nº 5)

La formulación de este medio permite el crecimiento de bacterias tales como *lactobacilli*, *estreptococos*, *clostridium* y *bacteroides* de muy difícil crecimiento.

FORMULA DEL MEDIO (por litro de agua destilada o desmineralizada):

Agar Soya tripticase(BBL)	40 gr.
Agar	5 gr.
Extracto de Levadura	5 gr.

Hemina	0.005 gr.
--------	-----------

L-Cistina	0.4 gr.
-----------	---------

(disueltas en 5 ml de agua)

Vitamina K ₁	1.0 gr.
-------------------------	---------

(disueltos en 99 ml de etanol absoluto)

pH final 7.6 ± 0.2

c.- MEDIO DE CULTIVO PARA STREPTOCOCOS: AGAR
MITIS SALIVARIS.

Se utiliza como medio de cultivo de elección para *estreptococos mitis* y *salivares* y para *enterococos*. (Figura nº 6)

FORMULA DEL MEDIO (por litro de agua destilada o desmineralizada):

Bacto Tryptose	10 gr.
Proteose Peptone no. 3 Difco	5 gr.
Proteose Peptone Difco	5 gr.
Bacto Dextrose	1 gr.
Bacto Saccharose	50 gr.
Dipotassium Phosphate	4 gr.
Trypan Blue	0.075 gr.
Bacto Crystal Violet	0.0008 gr.
Bacto Agar	15 gr.

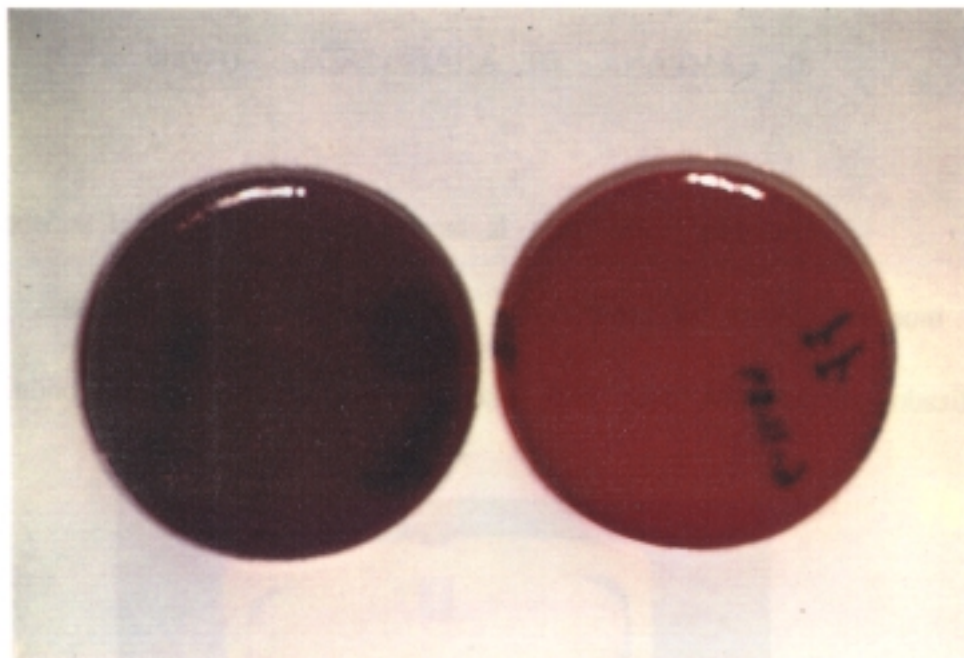


Figura n° 5: Medios de cultivo en placa Agar sangre para aerobios y para anaerobios.

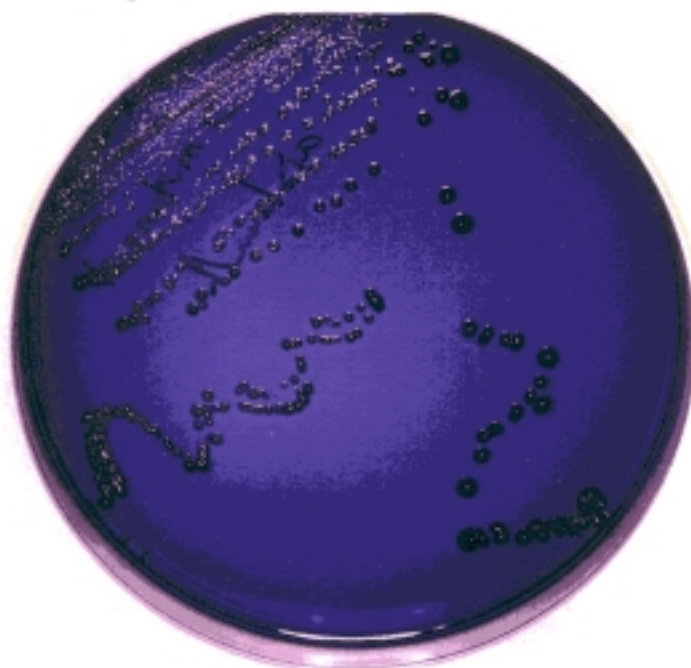


Figura n° 6: Medio de cultivo Agar Mitis Salivaris.

d.- CAMPANA DE ANAEROBIOS. (Figura nº 7)

Utilizada tanto para la incubación como para el transporte de las muestras. Para la consecución del ambiente de anaerobiosis hemos utilizado sobres BBL Gas Pack plus con indicadores de conversión.



Figura nº 7: Campana de Anaerobiosis.

e.- SOBRES BBL GasPak Plus para consecución de ambiente anaeróbico e indicadores de conversión BBL GasPak. (Figura nº 8)

El sistema BBL GasPak Plus es un generador de hidrógeno y dióxido de carbono, que proveen una atmósfera libre de oxígeno adecuada para el crecimiento y cultivo de bacterias anaerobias.

Se presenta en un sistema de sobres que contienen:

- 1.- Una tableta de Borohidrato de Sodio.
- 2.- Una tableta de ácido cítrico y bicarbonato sódico.
- 3.- Un papel filtro.
- 4.- Un catalizador: Paladio.

El sistema se activa mediante la adición de 10 ml de agua. El hidrógeno se genera por la reacción del agua con el borohidrato sódico, en presencia de oxígeno y del catalizador de paladio.

El dióxido de carbono se genera por la reacción del agua con el ácido cítrico y el bicarbonato sódico, e inunda la atmósfera del medio aproximadamente una hora después de la activación a temperatura ambiente.

El CO_2 se requiere para favorecer el crecimiento de ciertos gérmenes anaerobios.

Los indicadores de conversión BBL GasPack, de azul de metileno se decoloran en ambiente anaeróbico aproximadamente después de 6h a temperatura ambiente (20 a 25 °C). Nos permiten comprobar en todo momento que el sistema de conversión anaeróbico funciona correctamente.



Figura n° 8: Sobres BBL GasPak Plus para la consecución de ambiente anaerobico.

El material de laboratorio utilizado para el procesamiento de las muestras examinadas bajo microscopio electrónico ha sido el siguiente:

1º.- Fijador de las muestras. La composición del fijador es la siguiente: Glutaraldehído al 2.5% en tampón fosfatos. (Figura nº 9)

2º.- Tampón fosfatos. Preparación:

- | | |
|--|-----------|
| - Fosfato sódico monohidrato ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) | 0.450 gr. |
| - Fosfato disódico 7 hidrato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) | 5.812 gr. |
| - Cloruro sódico (ClNa) | 1.250 gr. |
| - Agua bidestilada | 250 ml. |

pH del tampón: 7.4.

Osmolaridad del tampón: 384 mosmoles.

Conservación: En nevera a 4°C. Renovarlo cada semana.

3º.- Campana de vacío para desecación.

4º.- Oro "Sputter".

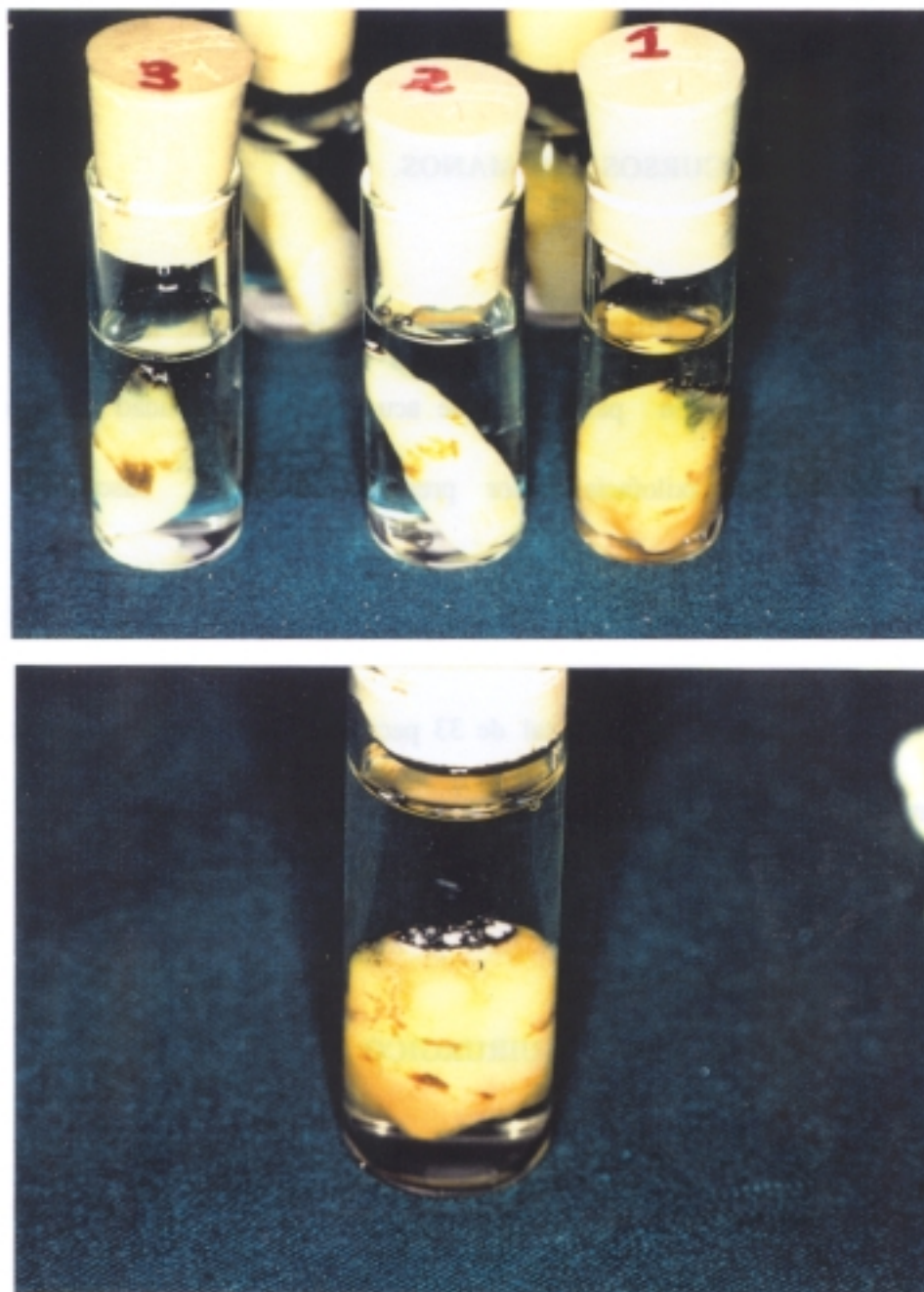


Figura nº 9: A./ Muestras seleccionadas para su procesado y examen bajo microscopía electrónica. B./ Detalle de una muestra a mayor aumento en la que observamos el tratamiento apical.

2.- RECURSOS HUMANOS.

Para la realización de un ensayo in vivo de la primera fase experimental participaron pacientes que acudieron a la Unidad docente de Cirugía Bucal y Maxilofacial por presentar patología susceptible de tratamiento quirúrgico.

Se incluyeron un total de 33 pacientes con patología periapical que precisaba intervención quirúrgica.

3.- MATERIAL QUIRURGICO.

El material quirúrgico empleado fue el propio para la realización de las técnicas de exodoncia y para la realización de intervenciones de Cirugía Bucal regladas. (Figura nº 10)

Consiste en:

-
- Jeringa tipo carpule.
 - Aguja larga de 42 mm desechable o aguja corta de 27 mm desechable.
 - Anestésico en carpule tipo ARTICAINA con Epinefrina como vasoconstrictor.
 - Juego de fórceps para arcada superior y para arcada inferior.
 - Botadores rectos y de Winter.
 - Bisturí tipo Bard-Parker.
 - Hojas de bisturí del nº 15 desechables.
 - Separadores de tipo Farabeuf.
 - Periostotomos.
 - Micromotor quirúrgico.
 - Fresas redondeadas de tungsteno.
 - Cucharillas de legrado.
 - Portaagujas tipo Mayo.
 - Pinzas de Adson.
 - Seda de 00 o bien de 000.

Se incluyó material preciso para la realización de apicectomías con relleno retrógrado convencional:

- Fresas de fisura de tungsteno.
- Contraángulo con microcabeza para apicectomía.
- Fresas en cono invertido para microcabeza.
- Portaamalgamas para apicectomía.
- Atacador de amalgama para apicectomía.

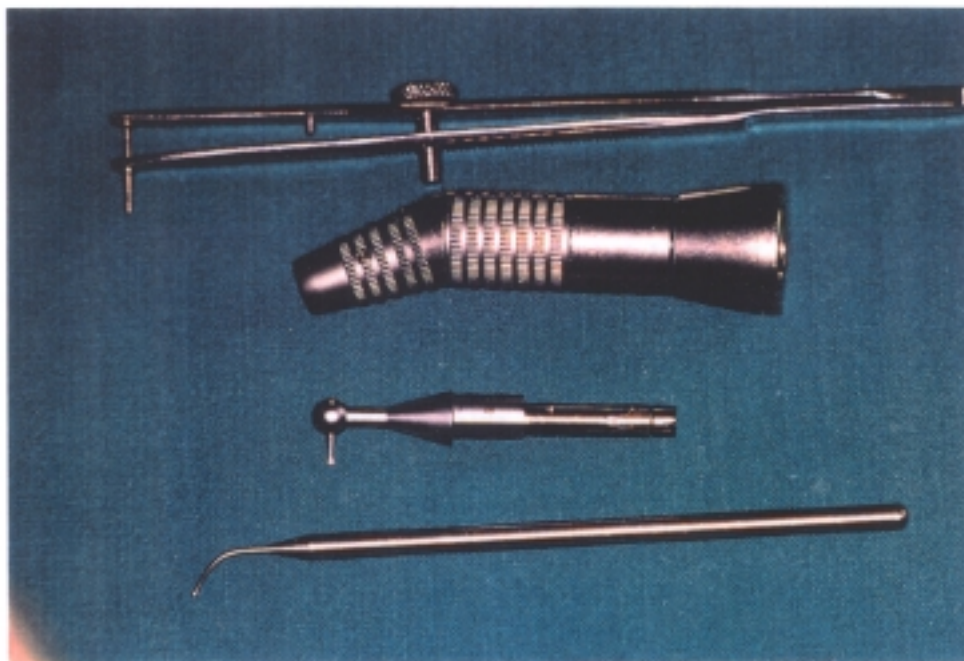


Figura nº 10: A./ Material quirúrgico general. B./ Material específico para cirugía periapical.

4.- MATERIAL FISICO.

4.1. Láser CO₂: El láser usado en la experimentación corresponde a un láser marca Sharplan 1020 de CO₂ con las siguientes características: (Figura nº 11)

* Tipo láser: Sealed off CO₂.

* Potencia de radiación: de 1 a 20 Watios.

* Modo de operación:

1.- Emisión continua.

2.- Pulso único, con posibilidad de preseleccionar el tiempo entre 0.05, 0.1, 0.2, y 0.5 segundos.

3.- Pulso repetitivo abierto con tiempos de 0.05 a 1 segundo y cerrado entre 0.1 a 1 segundo.

* Tensión de alimentación:

120 V/ 4 A/ 60 Hz o

230 V/ 2 A/ 50 Hz.

* Longitud de onda: 10.6 micras.

* Diámetro del punto láser:

1.- 0.1 mm para 50 mm de distancia focal.

2.- 0.79 mm para 300 mm de distancia focal.

* Radio de operación: 120 cm.

* Rayo guía: láser rojo He-Ne de baja potencia a 2mW.

4.2. Lupa Estereoscópica WILD:

Asimismo todas las muestras examinadas mediante M.E.B. fueron analizadas previamente mediante lupa estereoscópica, que permite su observación hasta con 20 aumentos. (Figura nº 12)

4.3. Microscopio Electrónico:

Se utilizó para el estudio de las muestras un Microscopio Electrónico de Barrido (M.E.B.) HITACHI HH-S2R, utilizando un potencial de aceleración de 20 Kv. (Figura nº 13)



Figura nº 11: Láser de CO₂ modelo SHARPLAN 1020. Potencia seleccionable de 0 a 20 W, en emisión continua o pulsos de tiempo seleccionable por el operador.



Figura nº 12: Lupa Estereoscópica de WILD. Conectada a un sistema informático que permite la realización de estudios morfométricos de gran precisión.

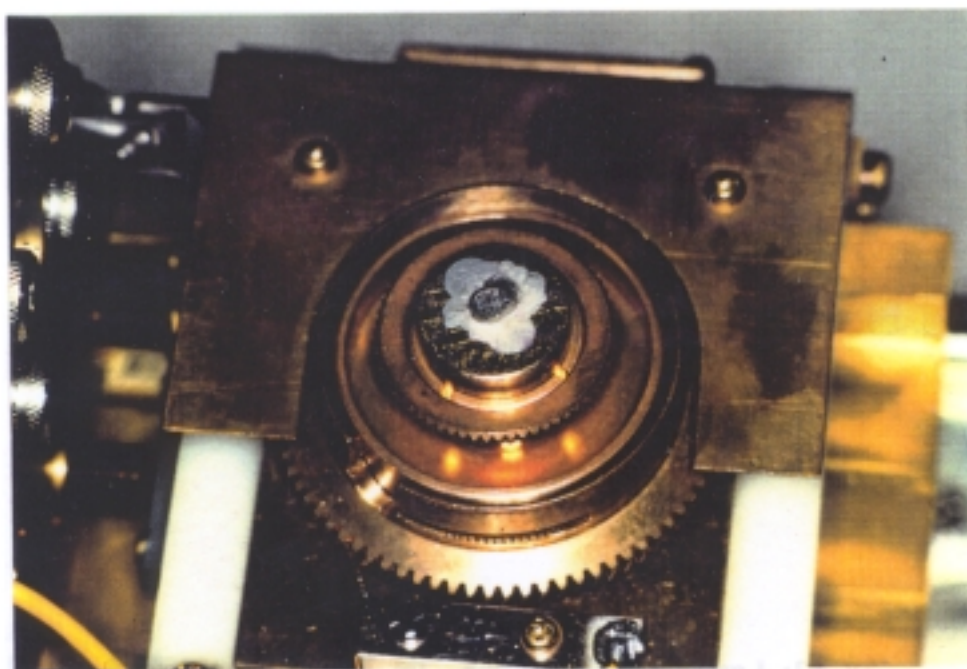
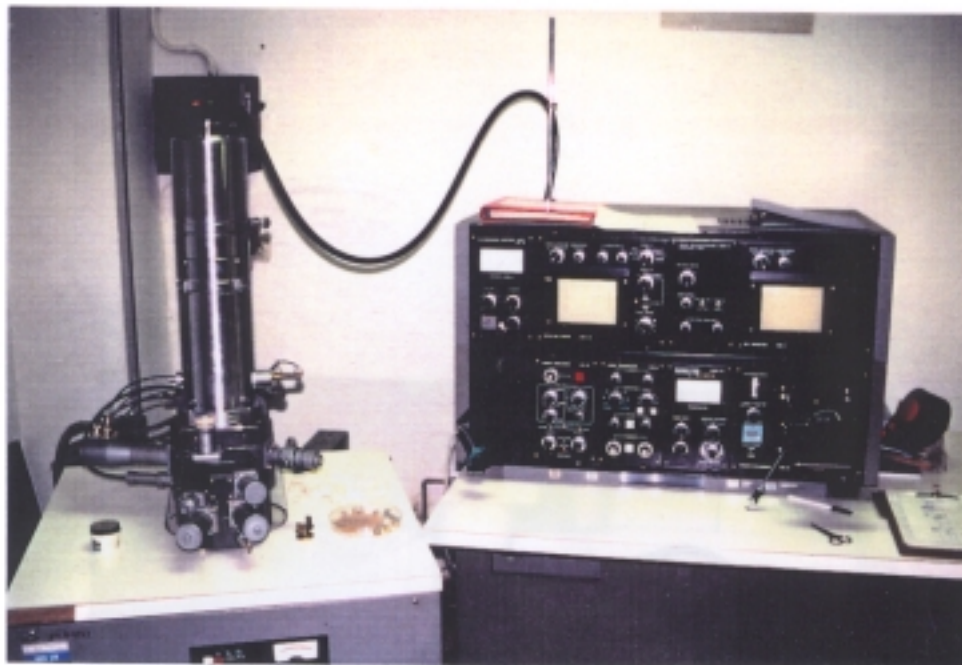


Figura nº 13: Microscopio Electrónico de barrido HITACHI HH-S2R.

A./ Tablero de control. B./ Detalle de la colocación de las muestras.

5.- MATERIAL COMPLEMENTARIO.

5.1. Material para tratamiento endodóncico.

5.2. Laca de recubrimiento.

5.3. RIFOCINA: solución de Rifamicina SV como sal sódica en solución. (Figura nº 14)

La Rifamicina presenta una elevada actividad antimicrobiana bactericida, que in vitro se manifiesta a concentraciones muy bajas (fracciones de gamma/ml), sobre gérmenes gram positivos, incluso los resistentes a otros antibióticos, y a concentraciones más elevadas sobre los gérmenes gram negativos.

5.4. Material Fotográfico.

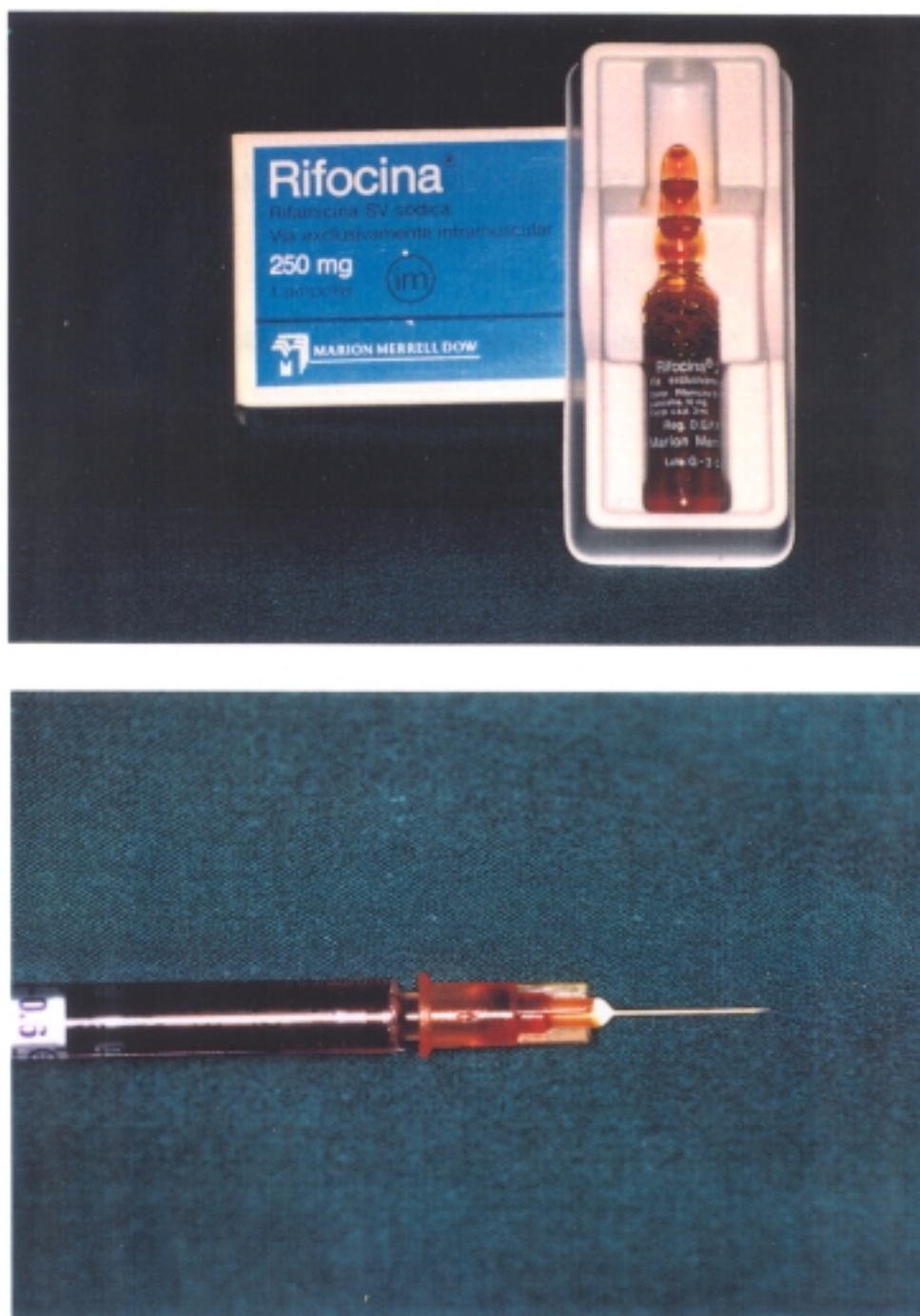


Figura n° 14: Presentación comercial de la Rifamicina empleada.

B.- METODO.

La metodología seguida en la realización de este trabajo queda agrupada en los siguientes puntos:

1.- Manejo de la muestra que constituye el **Grupo A** de la experimentación, o de confirmación del efecto esterilizante del láser CO₂ in vitro, mediante estudio microbiológico.

2.- Fase experimental de confirmación del efecto esterilizante del láser CO₂ in vivo, mediante estudio microbiológico. (**Grupo B**).

3.- Manejo de la muestra que constituye el **Grupo C** de la experimentación, o de confirmación del efecto de sellado apical del láser CO₂ mediante estudio microbiológico.

4.- Procesado de la muestra que constituye el Grupo D de la experimentación, o de análisis ultraestructural de las modificaciones dentinarias del ápice radicular tras la interacción del láser CO₂.

5.- Análisis Estadístico.

1.- Una vez obtenidas las muestras objeto de la experimentación que hemos considerado como primera fase o de confirmación del efecto esterilizante del láser CO₂, (Grupo A) se procedió a su división en los tres grupos que hemos reseñado anteriormente:

1.- Grupo A₁ o Grupo Control. Compuesto por aquel grupo de dientes no irradiados mediante láser CO₂. Integrado por un total de 31 dientes.

2.- Grupo A₂ o Grupo Láser 10 W . Compuesto por aquellos dientes irradiados con láser CO₂ a 10 W de

potencia. Integrado por un total de 33 dientes.

3.- Grupo A_3 o Grupo Láser 5 W. Compuesto por aquellos dientes irradiados con láser CO_2 a 5 W de potencia. Integrado por un total de 31 dientes.

Por tanto el conjunto de la muestra total de grupo A de la experimentación quedó constituido por 95 dientes.

Inmediatamente después de la extracción dentaria de la muestra que integró los grupos A_2 y A_3 fue sometida a irradiación láser de toda la superficie dentaria, corono-radicular, con las siguientes características:

- * Emisión continua.

- * Aplicación focalizada con 125 mm de distancia focal, y por tanto un diámetro del punto láser de 0.25 mm.

- * Potencia de aplicación 10 W en el grupo A_2 y 5 W en el grupo A_3 .

Todas las muestras de los grupos láser (A_2 y A_3) y del grupo control A_1 se introdujeron en el medio de enriquecimiento thioglicolato modificado con hemina y vitamina k_1 anteriormente descrito, para su incubación en estufa a 37°C durante 72 horas. Se realizaron controles visuales a las 24 horas, 48 horas, y 72 horas. (Figura nº 15)

Posteriormente se procedió a la confirmación o no del crecimiento bacteriano mediante cultivo en placa.

Tanto la incubación en medio de enriquecimiento como el cultivo en placa se realizó en medio aerobio y anaerobio, para lo cual fue precisa la utilización de los dos medios de cultivo descritos, Columbia Agar Base para medio aerobio, y Agar Sangre Anaeróbico CDC o Schaedler Agar para medio anaeróbico. En este segundo medio, el cultivo se realizó utilizando una campana de anaerobios y sobres BBL GasPak Plus para la consecución del ambiente anaeróbico, controlado mediante indicadores de conversión BBL GasPak ya descritos.

Tras la confirmación del crecimiento bacteriano en placas de aquellas muestras que lo presentaron, se procedió a la identificación de los gérmenes.



Figura n° 15: Tubo de ensayo en el que se observa una de las muestras objeto de estudio en medio de enriquecimiento Thioglicolato modificado con hemina y vit. K₁.

2.- Aquella fase experimental que hemos denominado de confirmación de la Esterilización in vivo, se realizó con una muestra total de 33 pacientes con patología periapical susceptible de tratamiento quirúrgico. (Grupo B).

La totalidad de la muestra se trató de forma convencional en pacientes con patología periapical, es decir, previo tratamiento endodóncico, en aquellos casos en los que no estaba realizado, se procedió a la eliminación del foco apical mediante su abordaje quirúrgico reglado, y a la realización de una apicectomía conservadora del cemento radicular afectado.

Posteriormente se diseñó una cavidad retroapical retentiva para alojar un material de sellado clásico como la amalgama a retro.

En este momento se tomó una muestra de la cavidad periapical realizada mediante raspaje con un cucharilla estéril. (Figura nº 16)

La totalidad de la muestra fue irradiada con láser CO₂ a nivel periapical, abarcando el defecto óseo dejado por la osteotomía y el cemento radicular remanente.

Se utilizó:

- * Emisión continua.

- * Aplicación focalizada con 125 mm de distancia focal, y por tanto un diámetro del punto láser de 0.25 mm.

- * Potencia de aplicación 10 W.

Tras la aplicación láser se tomo una segunda muestra mediante raspaje con cucharilla estéril. (Figura nº 17)

El material obtenido pre y post irradiación láser se sometió a cultivo en medio de enriquecimiento Thioglicolato modificado, realizándose controles a las 24, 48 y 72 horas y posterior cultivo en placa en medio aerobio y anaerobio.

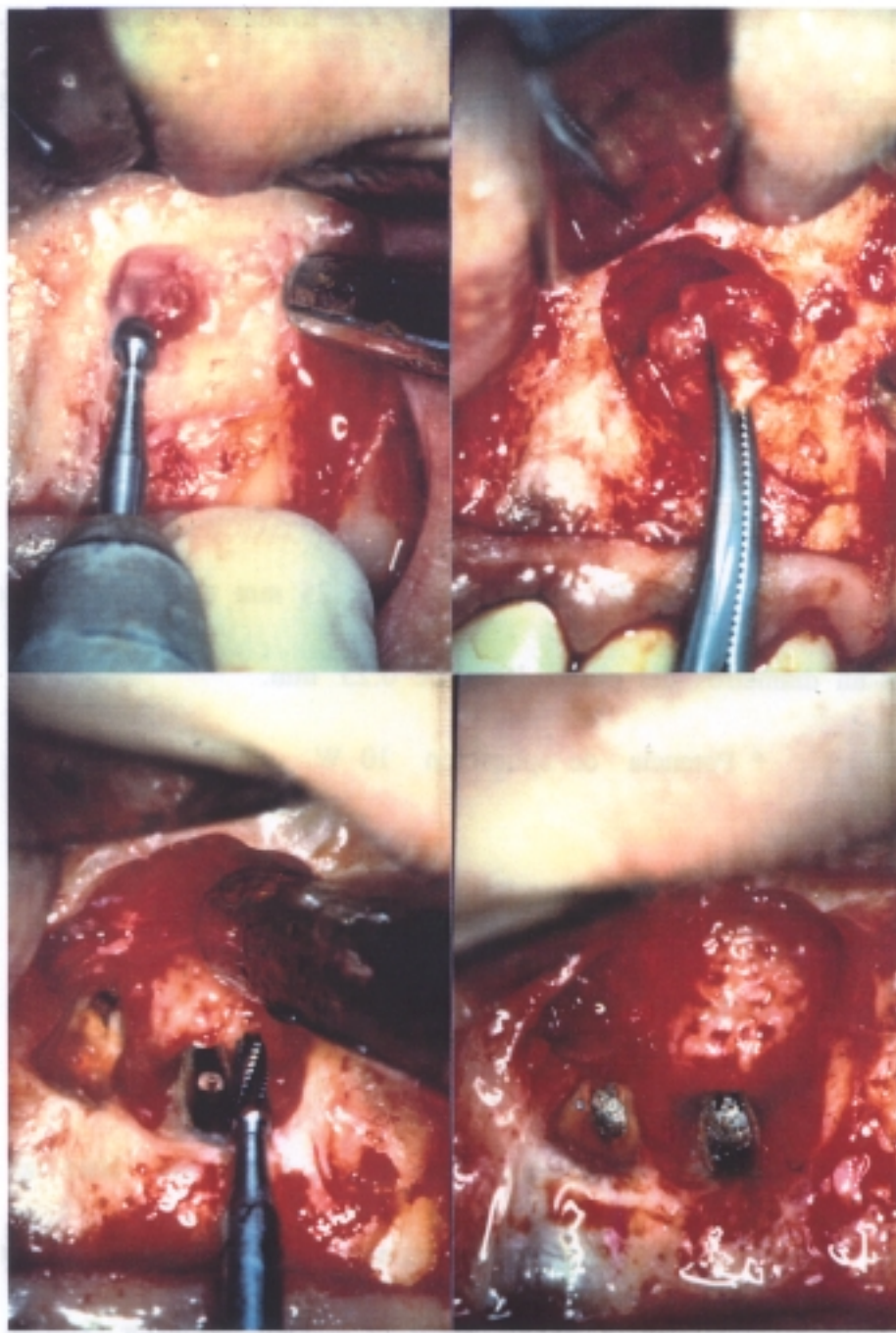


Figura nº 16: Tratamiento quirúrgico periapical.

3.- Las muestras que integraron el tercer grupo (Grupo C) de experimentación, en un total de 93 dientes, fueron procesadas para confirmar el sellado apical del láser CO₂ mediante estudio microbiológico.

En este grupo realizamos también tres subdivisiones de modo similar a lo realizado en el primer tiempo de la experimentación (grupo A), con la diferencia que las potencias empleadas en los grupos láser se modificaron en función de los resultados obtenidos en la primera fase de la experimentación. Así:

1.- Grupo C₁ o Grupo Control. Integrado por aquellos dientes no irradiados con láser CO₂ en los que se realizó una instrumentación endodóncica convencional.

2.- Grupo C₂ o Grupo Láser 10 W. Integrados por aquellos dientes irradiados con láser CO₂ a 10 W de potencia en los que se realizó una instrumentación endodóncica convencional.



3.- Grupo C_3 o Grupo Láser 15 W. Integrados por aquellos dientes irradiados con láser CO_2 a 15 W de potencia en los que se realizó una instrumentación endodóncica convencional.

Inmediatamente tras la extracción dentaria procedimos de la siguiente manera:

1º.- Instrumentación endodóncica de todos los grupos de la muestra, C_1 , C_2 , y C_3 . Esta instrumentación se realizó hasta el límite cemento-dentinario, como en condiciones habituales en este tipo de tratamientos. (Figura nº 18)

Se consideró una instrumentación máxima correspondiente a un lima K del nº 25.

2º.- Todas las muestras de los tres subgrupos fueron pinceladas con laca de recubrimiento en toda su superficie, excepto la ventana a tratar (ápice radicular).

3°.- En todas las muestras se realizó un biselado apical mínimo, semejante al realizado en las técnicas de apicectomía convencionales.

4°.- Aplicación láser en los grupos C_2 y C_3 con las siguientes características: (Figura nº 19)

* Las potencias aplicadas correspondieron a 10 W para el grupo C_2 y 15 W para el grupo C_3 .

* Aplicación focalizada con 125 mm de distancia focal, y por tanto un diámetro del punto láser de 0.25 mm.

* Pulsos repetidos cerrados con tiempo de 0.1 segundo.

5°.- Introducción de un antibiótico seleccionado (RIFOCINA) en el interior del conducto radicular de todas las muestras de los tres subgrupos, mediante la utilización de una jeringa de insulina con aguja corta y fina.

6°.- Sellado coronal con un cemento de Oxifosfato de Zn.

7º.- Colocación de las muestras por grupos en medios de cultivo Agar mitis salivaris, previa inoculación de un caldo de cultivo de estreptococos en dicho medio. La colocación de las muestras en las placas de cultivo se hizo de forma horizontal y con ligera inclinación apical. (Figura nº 20)

Simultáneamente se realizan controles de crecimiento de estreptococos en placas testigo, así como controles de inhibición de crecimiento del antibiótico Rifocina, también en placas testigo.

Las placas se incubaron en estufa a 37 °C realizándose un control a las 24 horas para determinar la presencia o no de un área de inhibición periapical. La presencia de un halo de dilución nos indicaría el paso de Rifocina al medio desde el interior del diente y la ausencia de sellado apical. La no presencia de este halo dilucional indicaría falta de paso del antibiótico desde el interior del diente al medio, y por tanto sellado apical. Este control se realizó para todas las muestras de los tres subgrupos, no siendo preciso realizar controles en tiempos posteriores.



Figura n° 18: Instrumentación endodóncica. Se realizó hasta el límite cemento-dentinario con una lima máxima correspondiente a una lima K n° 25 .

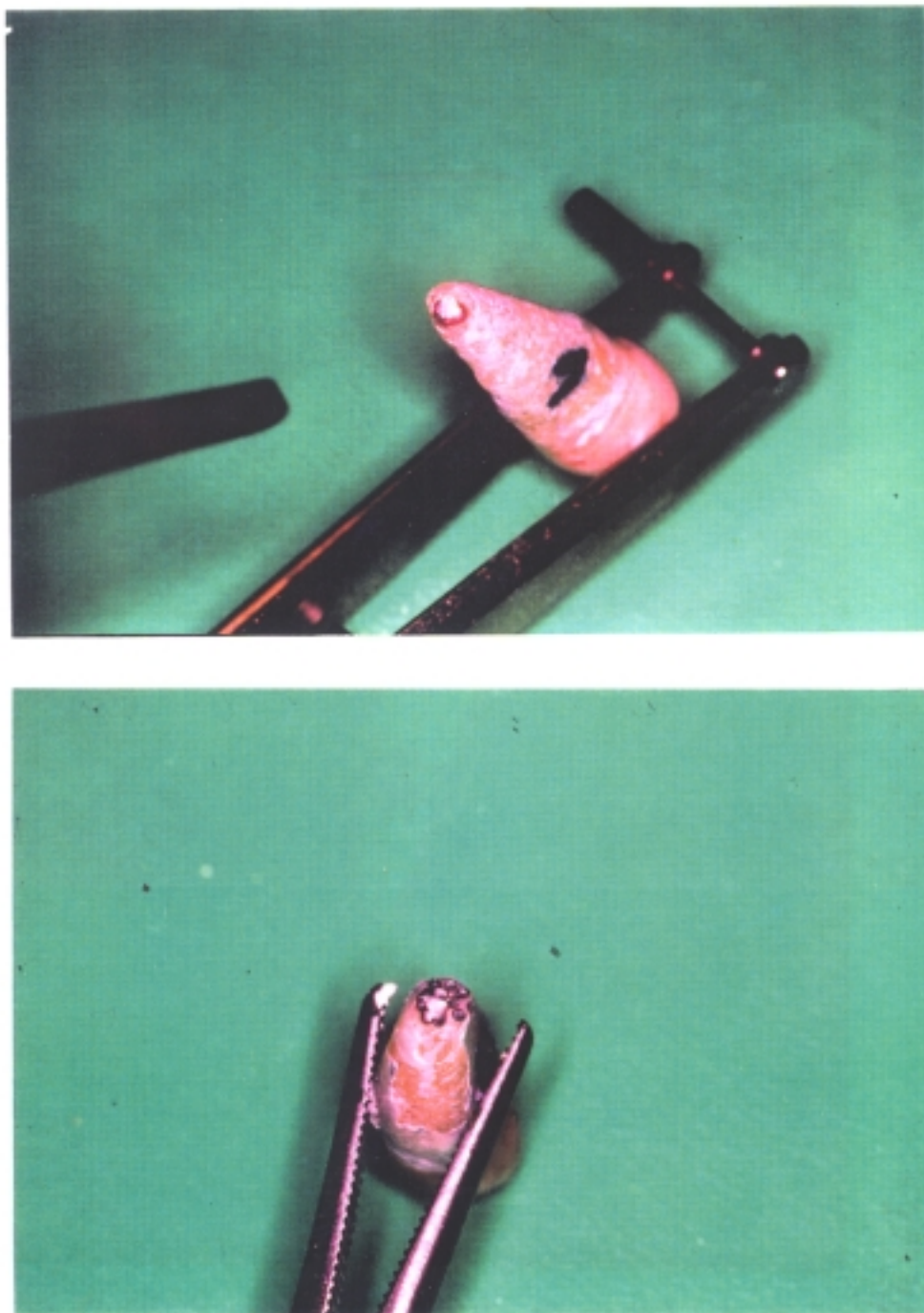


Figura nº 19: Aplicación láser en ápice radicular.

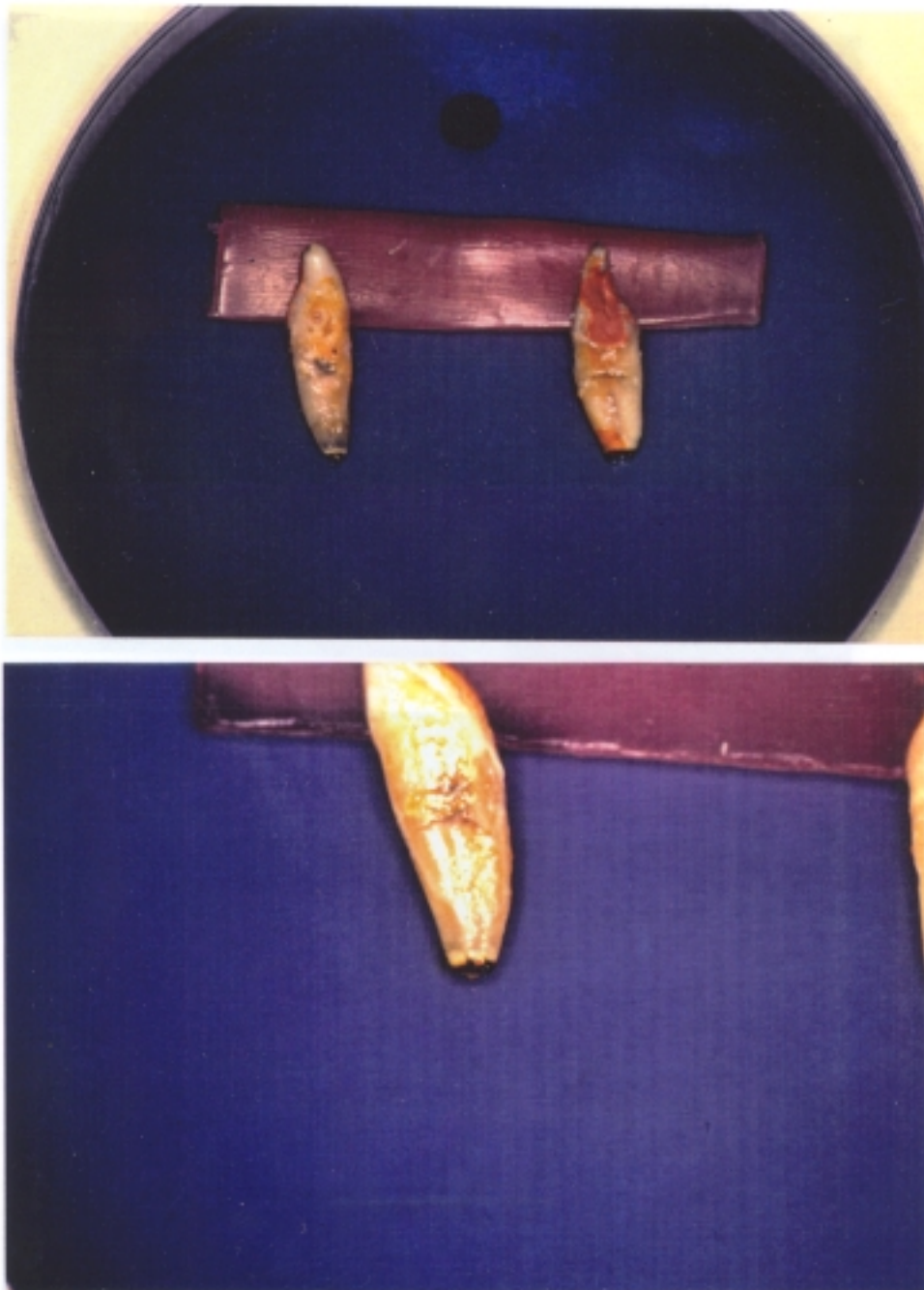


Figura nº 20: A./ Colocación de las muestras en medio de cultivo.

B./ Detalle a mayor aumento donde podemos observar la zona apical tratada en contacto con el medio.

3.- El conjunto de la muestra seleccionada para integrar la cuarta fase de la experimentación (Grupo D), fue encaminada a evidenciar macroscópica y ultraestructuralmente los cambios experimentados en el ápice radicular tras la interacción de la luz láser.

Del conjunto total de la muestra, 45 dientes, se seleccionaron de forma aleatoria aquellas que formaron parte de cada uno de los subgrupos siguientes y que fueron examinadas bajo lupa estereoscópica y microscopía electrónica de barrido:

1.- Grupo D_1 : Grupo Control. Integrado por aquel grupo de dientes que fueron examinados bajo microscopía electrónica y lupa estereoscópica, en los que se realizó un bisel apical sin irradiación láser CO_2 .

2.- Grupo D_2 : Integrado por aquel grupo de dientes examinados bajo microscopía electrónica y lupa estereoscópica, en los que se realizó un bisel apical con irradiación láser CO_2 a 10 W de potencia.

3.- Grupo D_3 : Integrado por aquel grupo de dientes examinados bajo microscopía electrónica y lupa estereoscópica, en los que se realizó un bisel apical con irradiación láser CO_2 a 15 W de potencia.

4.- Grupo D_4 : Integrado por un conjunto de dientes que fueron irradiados mediante láser de CO_2 tras la realización del bisel apical con potencias límite, y que constituyen un grupo testigo de observación de las variaciones estructurales entre ambos límites.

Distinguimos:

- D_{4-1} : 1 W de potencia.
- D_{4-2} : 20 W de potencia.
- D_{4-3} : 5 W de potencia.

Inmediatamente tras la extracción dentaria, la totalidad de la muestra fue tratada de la siguiente manera:

1º.- Realización de un bisel apical mínimo mediante fresa de fisura de tungsteno. (Figura nº 21)

2º.- Aplicación láser en los grupos D₂, D₃, y D₄, con las siguientes características: (Figura nº 22)

* Las potencias aplicadas correspondieron a 10 W para el grupo D₂ y 15 W para el grupo D₃. El grupo D₄ agrupo una muestra heterogénea que denominamos testigo con potencias límite de 1 y 20 W y una potencia intermedia de 5 W.

* Aplicación focalizada con 125 mm de distancia focal, y por tanto un diámetro del punto láser de 0.25 mm.

* Pulsos repetidos cerrados con tiempo de 0.1 segundo.

3º.- Fijación de la muestra en glutaraldehído.

4º.- Lavado en buffer fosfato durante 20 minutos.

5º.- Lavado en agua destilada durante 20 minutos.

6º.- Desección en campana de vacío.

7º.- Recubrimiento con oro "Sputter".

8º.- Estudio mediante lupa estereoscópica Wild.

9º.- Análisis mediante Microscopía Electrónica de Barrido. (Figura nº 23)

10º.- Estudio morfométrico de los diferentes componentes de las modificaciones estructurales.



Figura n° 21: Bisel apical.

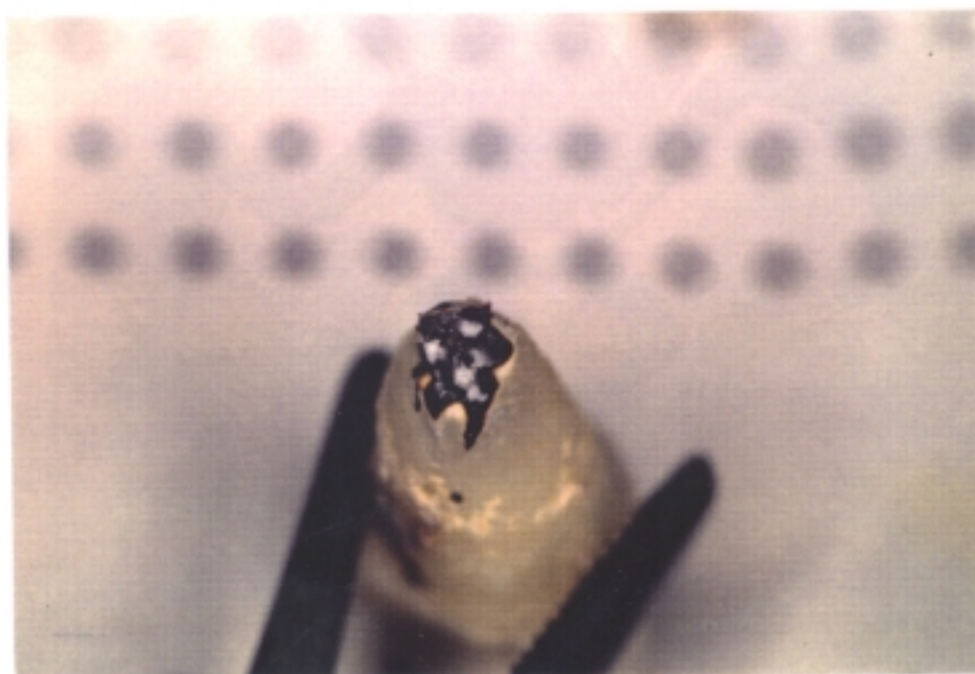


Figura n° 22: Bisel apical irradiado mediante láser CO₂

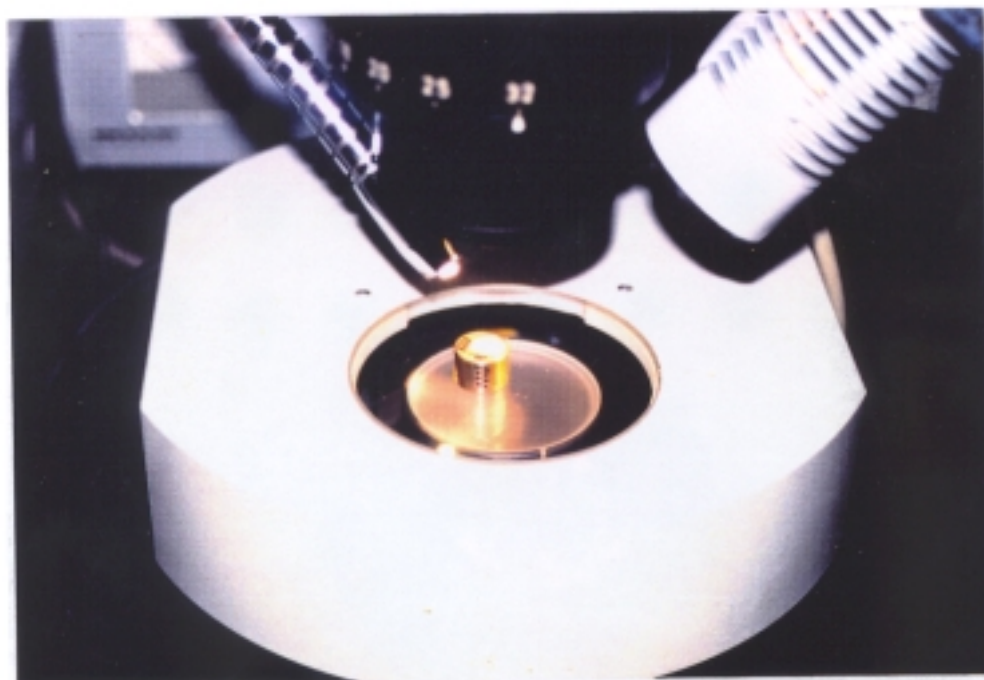


Figura n° 23: Manejo de la muestra.

5.- Análisis Estadístico.

Se han examinado los datos obtenidos de los diversos grupos que constituyen la experimentación mediante análisis estadístico e informático.

Las datos obtenidos de las diferentes muestras se han evaluado manteniendo la distribución, realizada por grupos vista anteriormente:

- 1.- Grupo A** o de esterilización in vitro.
- 2.- Grupo B** o de esterilización in vivo.
- 3.- Grupo C** o de confirmación del sellado apical por estudio microbiológico.

Los datos obtenidos en la muestra que constituye el **Grupo D** (modificaciones estructurales) no se ha sometido a estudio estadístico dado que no son procesables en este sentido.

La metodología estadística empleada fue descriptiva, para todos los grupos y analítica para los grupos A y B, con comparaciones intergrupo e intragrupo. El grupo C no fue examinado de forma analítica dado que los datos obtenidos solo precisaron estudio descriptivo.

ESTADISTICA DESCRIPTIVA.

Dado que las variables examinadas son cualitativas, se calcularon las frecuencias absolutas y relativas porcentuales.

ESTADISTICA ANALITICA.

Comparaciones intergrupo.

Se ha utilizado la prueba del Chi-cuadrado, con la corrección de Yates, y el test exacto de Fisher en aquellas tablas de contingencia de 2x2 que fue necesario.

Comparaciones intragrupo.

Para el análisis de este tipo de variables cualitativas se ha utilizado la prueba de McNemar para datos pareados.

Los datos ha sido introducidos en una base de datos mediante un sistema de doble entrada con la posterior comparación informática.

Todos los datos han sido tratados estadísticamente con el programa SAS System 6.08

5. - RESULTADOS.

Los resultados obtenidos tras el análisis de los datos derivados de cada uno de los grupos estudiados en la experimentación, y que fueron detallados con anterioridad, se han agrupado para su presentación de la siguiente manera:

5.1.- Esterilización in vitro.

5.1.1.- Descriptiva global.

5.1.2.- Descriptiva por grupos:

- Potencia
- Medio.

5.1.3.- Estadística Analítica.

5.2.- Esterilización in vivo.

5.2.1.- Descriptiva global.

5.2.2.- Descriptiva por grupos: - Medio.

5.2.3.- Estadística Analítica.

5.3.- Vitricación. Estudio Microbiológico.

5.4.- Vitricación. Estudio Estructural.

5.1.- Esterilización in vitro.

5.1.1.- Esterilización in vitro.

*** Descriptiva global.**

Los resultados que se agrupan en la Tabla I, corresponden a los recogidos en la primera fase de la experimentación, que tiene por objeto la confirmación o no del efecto esterilizante in vitro del láser de CO_2 mediante la realización de un estudio microbiológico, descrito con anterioridad en la Metodología.

La muestra integrante de esta fase constituye el denominado Grupo A, en número total de 95 muestras distribuidas al azar en tres subgrupos, A_1 , A_2 y A_3 , en función de la potencia de aplicación láser.

La recogida de los datos se realizó valorando como (+) la presencia de crecimiento y (-) el no crecimiento bacteriano de cada una de las muestras en los controles realizados a las 24, 48 y 72 horas, así como el cultivo posterior.

TABLA I. ESTERILIZACION IN VITRO.

Nº	POTENCIA	24 h.	48 h.	72 h.	CULTIVO
1	5 W	-	+	+	POSITIVO
2	5 W	-	+	+	POSITIVO
3	5 W	-	+	+	POSITIVO
4	10 W	-	-	-	ESTERIL
5	10 W	-	+	+	POSITIVO
6	10 W	-	-	-	ESTERIL
7	10 W	-	-	-	ESTERIL
8	5 W	-	-	-	ESTERIL
9	5 W	-	-	-	ESTERIL
10	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
11	10 W	-	-	-	ESTERIL
12	10 W	-	-	-	ESTERIL
13	5 W	-	-	-	ESTERIL
14	5 W	-	+	+	POSITIVO
15	5 W	-	+	+	POSITIVO
16	5 W	-	-	-	ESTERIL
17	10 W	-	-	-	ESTERIL
18	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
19	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
20	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
21	CONTROL	+	+	+	POSITIVO

Nº	POTENCIA	24 h.	48 h.	72 h.	CULTIVO
22	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
23	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
24	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
25	5 W	-	+	+	POSITIVO
26	10 W	-	-	-	ESTERIL
27	10 W	-	-	-	ESTERIL
28	10 W	-	-	-	ESTERIL
29	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
30	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
31	10 W	-	-	-	ESTERIL
32	10 W	-	-	-	ESTERIL
33	10 W	-	-	-	ESTERIL
34	10 W	-	-	-	ESTERIL
35	10 W	-	-	-	ESTERIL
36	10 W	-	-	-	ESTERIL
37	10 W	-	-	-	ESTERIL
38	10 W	-	-	-	ESTERIL
39	10 W	-	-	-	ESTERIL
40	10 W	-	-	-	ESTERIL
41	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
42	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
43	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
44	CONTROL	+	+	+	POSITIVO

RESULTADOS

204

Nº	POTENCIA	24 h.	48 h.	72 h.	CULTIVO
45	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
46	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
47	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
48	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
49	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
50	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
51	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
52	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
53	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
54	5 W	-	+	+	POSITIVO
55	5 W	-	+	+	POSITIVO
56	5 W	-	+	+	POSITIVO
57	5 W	-	+	+	POSITIVO
58	10 W	-	-	-	ESTERIL
59	10 W	-	-	-	ESTERIL
60	10 W	-	-	-	ESTERIL
61	10 W	-	-	-	ESTERIL
62	10 W	-	-	-	ESTERIL
63	10 W	-	-	-	ESTERIL
64	10 W	-	-	-	ESTERIL
65	10 W	-	-	-	ESTERIL

Nº	POTENCIA	24 h.	48 h.	72 h.	CULTIVO
<hr/>					
66	10 W	-	-	-	ESTERIL
67	10 W	-	-	-	ESTERIL
68	10 W	-	-	-	ESTERIL
69	5 W	-	+	+	POSITIVO
70	5 W	-	+	+	POSITIVO
71	5 W	-	+	+	POSITIVO
72	5 W	-	+	+	POSITIVO
73	5 W	-	+	+	POSITIVO
74	5 W	-	-	-	ESTERIL
75	5 W	-	+	+	POSITIVO
76	5 W	-	+	+	POSITIVO
77	5 W	-	+	+	POSITIVO
78	5 W	-	+	+	POSITIVO
79	10 W	-	-	-	ESTERIL
80	5 W	-	+	+	POSITIVO
81	5 W	-	+	+	POSITIVO
82	5 W	-	+	+	POSITIVO
83	5 W	-	+	+	POSITIVO
84	5 W	-	+	+	POSITIVO
85	5 W	-	+	+	POSITIVO
86	5 W	-	+	+	POSITIVO
87	10 W	-	-	-	ESTERIL

RESULTADOS

206

Nº	POTENCIA	24 h.	48 h.	72 h.	CULTIVO
88	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
89	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
90	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
91	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
92	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
93	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
94	CONTROL	+	+	+	POSITIVO
95	CONTROL	+	+	+	POSITIVO

ESTERILIZACION IN VITRO.

	MEDIO AEROBIO	MEDIO ANAEROBIO
CONTROL	10, 18-24, 29-30, 41-46	47-53, 88-95
10 W	4-7, 11-12, 17, 26-28, 31-38	39-40, 58-68, 79, 87
5 W	1-3, 8-9, 13-16, 25, 54-57,	69-78, 80-86

Procedemos en primer lugar a un estudio descriptivo global de la muestra total, de carácter porcentual, en el que valoramos los siguientes parámetros:

- 1.- Potencia utilizada (parámetro POTENCIA).
- 2.- Primer control del medio de incubación a las 24 horas (Parámetro H24).
- 3.- Segundo control del medio de incubación a las 48 horas (Parámetro H48).
- 4.- Tercer control del medio de incubación a las 72 horas (Parámetro H72).
- 5.- Control mediante cultivo en placa de agar sangre (Parámetro CULTIVO).
- 6.- Medio utilizado tanto para la incubación como para el cultivo en placa, aerobio o anaerobio (Parámetro MEDIO).

La distribución de la muestra del grupo A en sus tres subgrupos A_1 , A_2 , A_3 , queda reflejada en la Tabla II:

TABLA II

Distribución en función de la POTENCIA de aplicación.

	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
5W	31	32.6	31	32.6
10W	33	34.7	64	67.4
CONTROL	31	32.6	95	100.0

El grupo A_1 corresponde al denominado grupo CONTROL, el grupo A_2 el denominado grupo láser 10 W, y el grupo A_3 al grupo láser 5 W.

Las diferencias porcentuales en la asignación de los grupos son fruto del azar ya que no se encuentran diferencias estadísticamente significativas, lo que indica la homogeneidad de la muestra.

Tras la aplicación del tratamiento asignado a cada uno de los grupos, la totalidad de la misma se introduce en medio de incubación, thioglicolato enriquecido, realizándose controles en tiempos definidos, que hemos denominado H24, H48, y H72.

La distribución de la muestra en estos tiempos control en función de la valoración obtenida, + o - fue la siguiente:

En H24, 64 de las 95 muestras se consideraron como - en crecimiento bacteriano, mientras que las otras 31 fueron +.

En H48 el porcentaje de muestras sin crecimiento bacteriano alcanzó al 38.9%, 37 de las 95, siendo + el crecimiento bacteriano en las otras 58 muestras.

En H72 se mantienen las proporciones registradas en H48, 58 muestras + y 37 -, 61.1 % frente a 38.9%.

TABLA III

Distribución en los tiempos control.

H24	Frecuencia		Frecuencia	
	Frecuencia	%	Acumulada	Porcentaje Acumulado
POSITIVO	31	32.6	31	32.6
NEGATIVO	64	67.4	95	100

H48	Frecuencia		Frecuencia	
	Frecuencia	%	Acumulada	Porcentaje Acumulado
POSITIVO	58	61.1	58	61.1
NEGATIVO	37	38.9	95	100

H72	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	58	61.1	58	61.1
NEGATIVO	37	38.9	95	100

Asimismo se realizó un control del crecimiento mediante cultivo en placa de agar sangre, que presentó los resultados que se muestran en la siguiente tabla:

TABLA IV

Distribución de resultados en el CULTIVO en placa.

CULTIVO	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	58	61.1	58	61.1
ESTERIL	37	38.9	95	100.0

Los resultados del cultivo en placa confirmaron los obtenidos el los tiempos control H48 y H72.

La distribución de la muestra según el medio utilizado para la incubación y el cultivo, sigue una distribución de frecuencias que se recoge el la Tabla V, y en la que las diferencias porcentuales en la asignación son fruto del azar, ya que no se evidencian diferencias estadísticamente significativas. (Muestra Homogénea)

En el 50.5% (48 casos) de la muestra total se utilizo un medio aerobio y en el 49.5% (47 casos) un medio anaerobio.

TABLA V

Distribución en función del MEDIO.

MEDIO	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
AEROBIO	48	50.5	48	50.5
ANAEROBIO	47	49.5	95	100

Cuando analizamos la distribución de la muestra con respecto al medio utilizado, individualizando cada uno de los tres subgrupos, CONTROL, LASER 10W y LASER 5W, los resultados obtenidos, que reflejamos en la Tabla VI, mantienen la homogeneidad de la muestra indicada con anterioridad.

TABLA VI

Distribución en función del Medio y Grupo de Tratamiento.

	M. AEROBIO	M. ANAEROBIO
5W	45.2%	54.8%
10W	54.5%	45.5%
CONTROL	51.6%	48.4%

5.1.2.- Esterilización in vitro.

*** Descriptiva por
grupos: - Potencia
- Medio**

Los resultados descriptivos globales presentan grandes modificaciones cuando estudiamos grupos de tratamiento de una manera individualizada.

El Grupo CONTROL presentó la siguiente distribución en función del medio:

TABLA VII

Distribución del Grupo Control en función del Medio.

	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
AEROBIO	16	51.6	16	51.6
ANAEROBIO	15	48.4	31	100

Todos los controles H24, H48 y H72 evidenciaron que la totalidad de la muestra (31 casos) presentó crecimiento bacteriano.

Este fue manifiesto en todos los casos ya desde el primer control en H24, con independencia de que el medio de incubación empleado fuera para ambiente aerobio o anaerobio. (Figura nº 24)

Asimismo el cultivo en agar sangre posterior confirmó los resultados de los tiempos control. (Tabla VIII)

TABLA VIII

Resultados del Grupo Control en los Tiempos H24, H48, H72 y en el Cultivo.

			Frecuencia	Porcentaje
H24	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	31	100	31	100

RESULTADOS

219

H48			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	31	100	31	100

H72			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	31	100	31	100

CULTIVO			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	31	100	31	100

La identificación de gérmenes responsables de crecimiento bacteriano fue en todos los casos compatible con la flora oral habitual, identificándose *cocobacilos*, *gram negativos* y *anaerobios*.

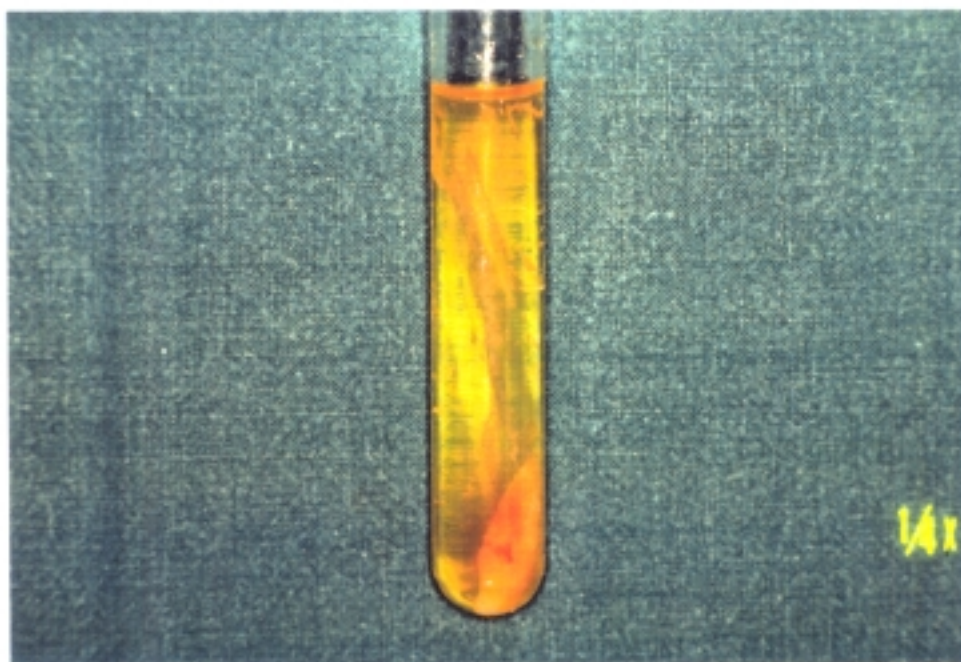


Figura nº 24: Aspecto del Medio de enriquecimiento para una muestra control, desde H24. Obsérvese el crecimiento bacteriano.

La muestra integrante del Grupo LASER 10 W se distribuyó en función del medio de incubación de la siguiente manera:

TABLA IX

Distribución del Grupo Láser 10W en función del Medio.

	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
AEROBIO	18	54.5	18	54.5
ANAEROBIO	15	45.5	33	100

En H24 la totalidad de la muestra se valoró como -, ausencia de crecimiento bacteriano. (Figura nº 25)

En H48 se positivizó 1 caso de los 33 integrantes de la muestra (3%), (Figura nº 27), manteniéndose estos resultados en H72, como vemos en la tabla siguiente:

TABLA X

Resultados del Grupo Láser 10W en los Tiempos Control.

H24			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
NEGATIVO	33	100	33	100

H48			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	1	3	1	3
NEGATIVO	32	97	33	100

H72			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	1	3	1	3
NEGATIVO	32	97	33	100

El cultivo en placa de agar sangre puso de manifiesto crecimiento bacteriano en el caso que se positivizó en H48 (Figura nº 28), como se refleja en la tabla siguiente:

TABLA XI

Resultados del Grupo Láser 10 W en el Cultivo en placa.

CULTIVO			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	1	3	1	3
NEGATIVO	32	97	33	100

El resto de la muestra (32 casos) presentaron ausencia de crecimiento en el cultivo. (Figura nº 26)

El caso que se positivizó a las 48 horas correspondió a la muestra nº 5 (Ver Tabla I). Su incubación en medio de enriquecimiento thioglicolato modificado se hizo para medio aerobio, así como el cultivo en placa posterior.

La identificación de los gérmenes responsables del crecimiento permitió comprobar la existencia de una cepa única de *stafilococo aerobio* +, con gran probabilidad procedente de contaminación, bien ambiental bien de manipulación de la muestra.

RESULTADOS



Figura n° 25: Aspecto del Medio de enriquecimiento para una muestra del grupo Láser 10 W, observable en H24, H48 y H72.

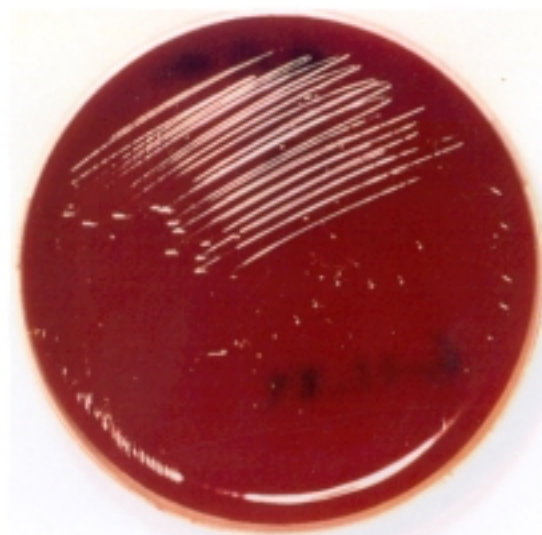
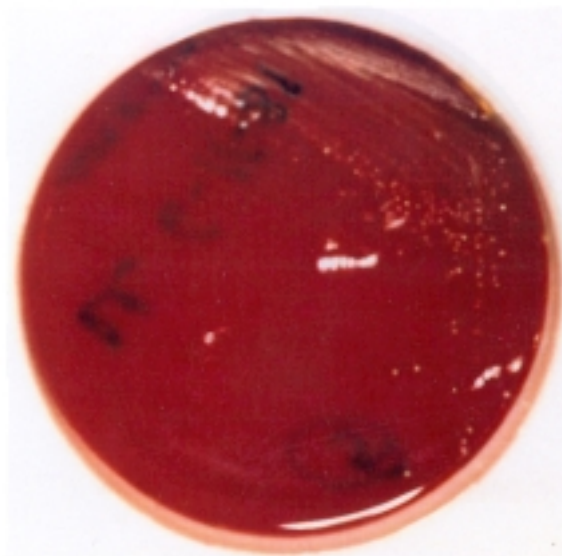


Figura n° 26: Cultivo en placa Agar sangre para las muestras grupo Láser 10 W



Figura n° 27: Aspecto del Medio de enriquecimiento en la muestra



**Figura n° 28: Cultivo en placa Agar sangre de la muestra n° 5 del
grupo Láser 10 W**

El Grupo Láser 5 W presentó la siguiente distribución de la muestra en función del medio:

TABLA XII

Distribución del grupo Láser 5 W en función del Medio.

	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
AEROBIO	14	45.2	14	45.2
ANAEROBIO	17	54.8	31	100

El 100% de la muestra se valoró como - , ausencia de crecimiento bacteriano en el control a las 24 horas (H24).

A partir del segundo control a las 48 horas (H48) el 83.9% de la muestra se positivizó, 26 de los 31 casos, permaneciendo sin crecimiento tan solo el 16.1%, 5 de los 31 casos. (Figura nº 29)

Esta tendencia se mantuvo en las mismas condiciones en el tercer control realizado a las 72 horas (H72), y se confirmó con el cultivo en placa posterior, en el que 5 de los 31 casos resultaron estériles y los otros 26 manifestaron crecimiento bacteriano. (Ver Tabla XIII)

(Figura nº 30)

La identificación de los gérmenes responsables de dicho crecimiento puso de manifiesto en los 26 casos la presencia de una mezcla de microorganismos similar a la que apareció en los casos del grupo Control, y por tanto compatible con la flora oral habitual.

TABLA XIII

Resultados del Grupo Láser 5 W en los Tiempos Control y en el Cultivo

			Frecuencia	Porcentaje
H24	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
NEGATIVO	31	100	31	100

			Frecuencia	Porcentaje
H48	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	26	83.9	26	83.9
NEGATIVO	5	16.1	31	100

			Frecuencia	Porcentaje
H72	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	26	83.9	26	83.9
NEGATIVO	5	16.1	31	100

	Frecuencia		Porcentaje	
CULTIVO	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	26	83.9	26	83.9
NEGATIVO	5	16.1	31	100

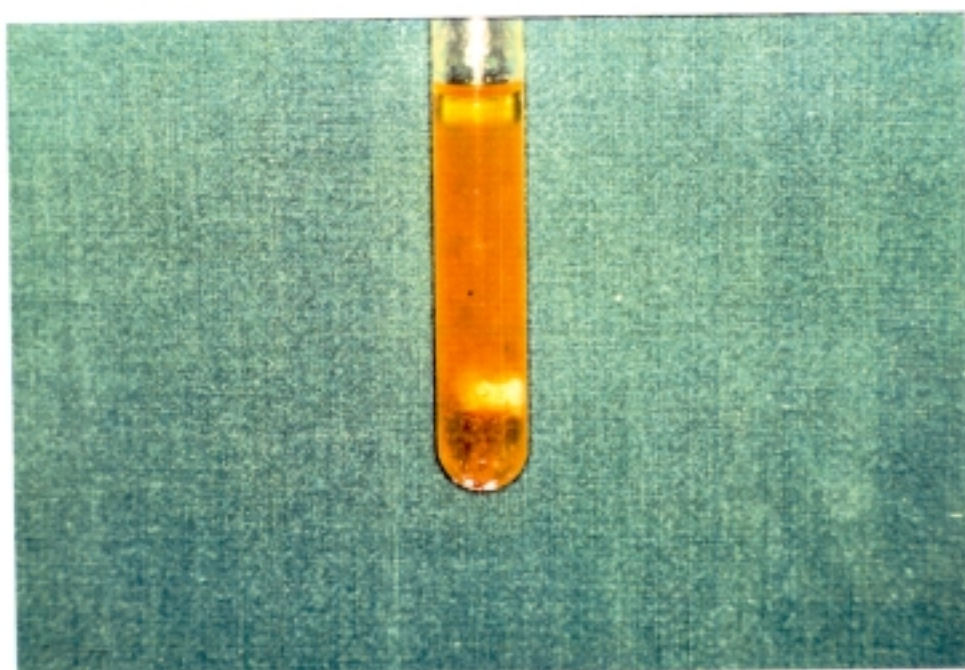


Figura n° 29: Aspecto del Medio de enriquecimiento para una muestra del grupo Láser 5 W positiva en H48 y H72.

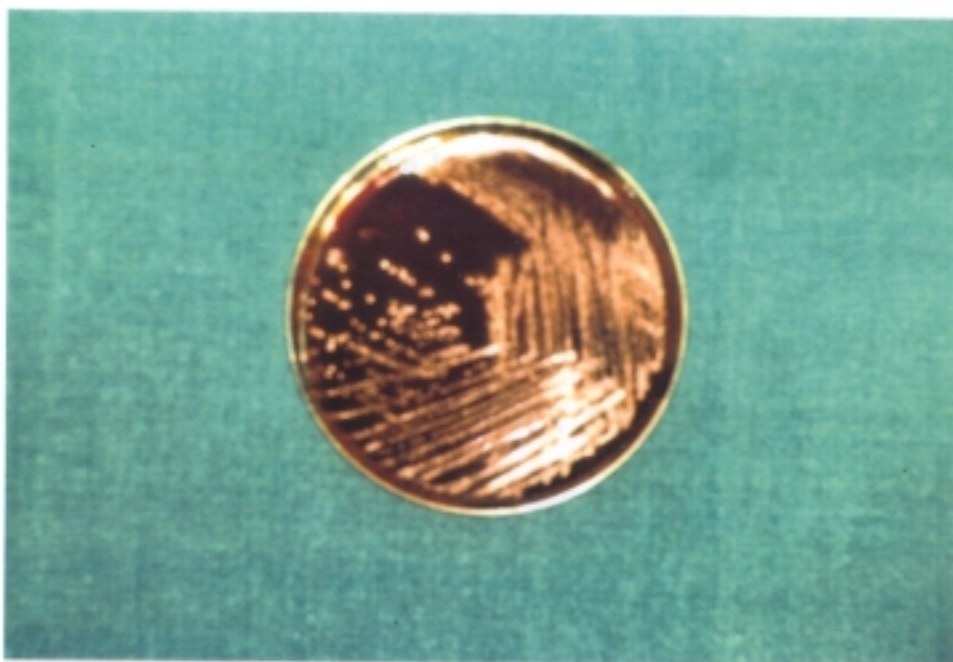


Figura nº 30: Aspecto del cultivo en placa de una muestra del grupo Láser 5 W positiva en H48 y H72

Podemos observar, por tanto, como los grupos LASER 10 W y LASER 5W, presentan una ausencia de crecimiento bacteriano en el 100% de los casos de la muestra de ambos grupos cuando examinamos la misma en el tiempo control H24, inversamente a lo que ocurre con el grupo CONTROL en este mismo tiempo, en el que el 100% de la muestra se valora positivamente.

A partir de las 48 horas y de forma idéntica a lo que sucede en el control a las 72 horas, los resultados varían de la siguiente manera para los grupos LASER :

Tratamiento	Negativo	Positivo
5W	16.1%	83.9%
10W	97.0%	3.0%

y se mantiene en el 100% de crecimiento a las 48 y 72 horas para el grupo CONTROL.

El Cultivo en placa posterior mantiene estos mismos porcentajes para los tres grupos, de forma que en el grupo LASER 10W el 97% de la muestra resultó estéril, en el grupo LASER 5W, tan solo el 16.1% de la muestra resultó estéril, y en el grupo CONTROL el 0% de la muestra.

Al realizar el análisis estadístico (que recogemos en el epígrafe Estadística Analítica), encontramos que existe una asociación estadísticamente significativa entre el tratamiento aplicado y la negativización del cultivo tanto a las 24 horas como a las 48 y 72 horas, así como en el cultivo, aplicando cualquiera de las dos potencias láser, 5 y 10 W, con una $p < 0.0001$.

Para valorar que tipo de potencia es mejor, es decir que consigue una esterilización completa y duradera en el tiempo, se realiza una comparación de porcentajes, demostrándose una diferencia estadísticamente significativa con $p < 0.001$ en favor de la potencia 10 W.

El medio de cultivo utilizado fue aerobio en el 50.5% de la muestra y anaerobio en el 49.5%, distribuyendose de una manera homogénea en cada uno de los grupos de tratamiento (no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas).

M. AEROBIO M. ANAEROBIO

Tratamiento	Frecuencia	%	Frecuencia	%	
5 W	4	29.2	17	36.2	
10 W	18	37.5	15	31.9	
CONTROL	16	33.3	15	31.9	

Se estudia la posibilidad de que el medio influya en la negativización, independientemente del tratamiento asignado, resultando que no existe una asociación estadísticamente significativa, de tal forma que no hay diferencias en cuanto a la negativización con respecto al medio de cultivo utilizado, en ninguno de los grupos de tratamiento. (Tablas XIV y XV)

TABLA XIV

Distribución en medio Aerobio

	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
5W	14	29.2	14	29.2
10W	18	37.5	32	66.7
CONTROL	16	33.3	48	100.0

	Frecuencia		Porcentaje	
H24	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	16	33.3	16	33.3
NEGATIVO	32	66.7	48	100

RESULTADOS

236

H48			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	27	56.3	27	56.3
NEGATIVO	21	43.8	48	100

H72			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	27	56.3	27	56.3
NEGATIVO	21	43.8	48	100

CULTIVO			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	27	56.3	27	56.3
NEGATIVO	21	43.8	48	100

TABLA XV

Distribución en medio Anaerobio

	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
5W	17	36.2	17	36.2
10W	15	31.9	32	68.1
CONTROL	15	31.9	47	100.0

	Frecuencia		Porcentaje	
H24	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	15	31.9	15	31.9
NEGATIVO	32	68.1	47	100

Para H48, H72, y para el Cultivo las distribuciones de resultados fueron:

	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	31	66.0	31	66.0
NEGATIVO	16	34.0	47	100

A la vista de los resultados podemos concluir que a las 24 horas de la aplicación del tratamiento láser a los dientes objeto de la muestra, todos los cultivos presentan ausencia de crecimiento bacteriano, (esterilización) independientemente de la potencia de utilizada (5W o 10W). Sin embargo, a partir de las 48 horas en medio de incubación, aquella muestra a la que se aplicaron 10 W de potencia, mantiene la negatividad del cultivo (esterilización), en porcentaje mayor y

estadísticamente significativo con respecto a aquella otra muestra a la que se aplicaron 5 W de potencia, no influyendo en ninguno de los dos grupos el medio de cultivo utilizado.

Estos resultados se mantienen inalterables a las 72 horas y en el cultivo en placa posterior. (Figura nº 31)

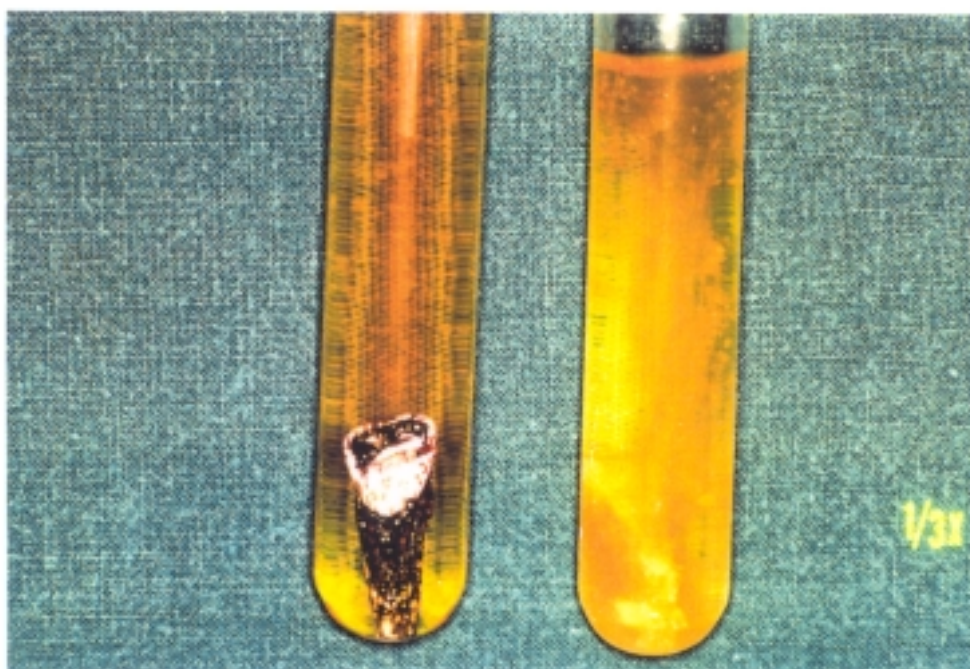


Figura nº 31: Aspecto del medio de enriquecimiento para una muestra control y otra muestra del grupo láser 10 W

5.1.3.- Esterilización in vitro.

*** Estadística Analítica**

TABLA XVI
ESTERILIZACION IN VITRO

	C1(POTENCIA)	C2(H24)	
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	Total
5W	0	31	31
10W	0	33	33
CONTROL	31	0	31
Total	31	64	95

	C1(POTENCIA)	C2(H24)	
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	Total
5W	10.116	20.884	
10W	10.768	22.232	
CONTROL	10.116	20.884	
Total	31	64	95

ESTADISTICA DE LA TABLA C1 POR C2

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	2	95.000	0.000
Ratio de probabilidad	2	119.992	0.000
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	69.766	0.000
Coeficiente Phi		1.000	
Coeficiente de contingencia		0.707	
V de Cramer		1.000	

Talla de la muestra = 95

TABLA XVII
ESTERILIZACION IN VITRO

C1 (POTENCIA)	C3 (H48)		
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	Total
5W	26	5	31
10W	1	32	33
CONTROL	31	0	31
Total	58	37	95

C1 (POTENCIA)	C3 (H48)		
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	Total
5W	18.926	12.074	
10W	20.147	12.853	
CONTROL	18.926	12.074	
Total	58	37	95

ESTADISTICA DE LA TABLA C1 POR C3

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	2	73.286	0.000
Ratio de probabilidad	2	90.663	0.000
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	1.678	0.195
Coeficiente Phi		0.878	
Coeficiente de contingencia		0.660	
V de Cramer		0.878	

Talla de la muestra = 95

TABLA XVIII
ESTERILIZACION IN VITRO

	C1(POTENCIA)	C4(H72)	
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	Total
5W	26	5	31
10W	1	32	33
CONTROL	31	0	31
Total	58	37	95

	C1(POTENCIA)	C4(H72)	
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	Total
5W	18.926	12.074	
10W	20.147	12.853	
CONTROL	18.926	12.074	
Total	58	37	95

ESTADISTICA DE LA TABLA C1 POR C4

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	2	73.286	0.000
Ratio de probabilidad	2	90.663	0.000
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	1.678	0.195
Coeficiente Phi		0.878	
Coeficiente de contingencia		0.660	
V de Cramer		0.878	

Talla de la muestra = 95

TABLA XIX
ESTERILIZACION IN VITRO

	C1 (POTENCIA)	C5 (CULTIVO)	
Frecuencia	POSITIVO	ESTERIL	Total
5W	26	5	31
10W	1	32	33
CONTROL	31	0	31
Total	58	37	95

	C1 (POTENCIA)	C5 (CULTIVO)	
Esperado	POSITIVO	ESTERIL	Total
5W	18.926	12.074	
10W	20.147	12.853	
CONTROL	18.926	12.074	
Total	58	37	95

ESTADISTICA DE LA TABLA C1 POR C5

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	2	73.286	0.000
Ratio de probabilidad	2	90.663	0.000
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	1.678	0.195
Coeficiente Phi		0.878	
Coeficiente de contingencia		0.660	
V de Cramer		0.878	

Talla de la muestra = 95

TABLA XX
ESTERILIZACION IN VITRO

C1(POTENCIA)		C6(MEDIO)	
Frecuencia	AEROBIO	ANAEROBIO	Total
5W	14	17	31
10W	18	15	33
CONTROL	16	15	31
Total	48	47	95

C1(POTENCIA)		C6(MEDIO)	
Esperado	AEROBIO	ANAEROBIO	Total
5W	15.663	15.337	
10W	16.674	16.326	
CONTROL	15.663	15.337	
Total	48	47	95

ESTADISTICA DE LA TABLA C1 POR C6

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	2	0.585	0.746
Ratio de probabilidad	2	0.586	0.746
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	0.255	0.613
Coeficiente Phi		0.078	
Coeficiente de Contingencia		0.078	
V de Cramer		0.078	

Talla de la muestra = 95

TABLA XXI
ESTERILIZACION IN VITRO: 5W

C6 (MEDIO)	C2 (H24)	
Frecuencia	NEGATIVO	Total
AEROBIO	14	14
ANAEROBIO	17	17
Total	31	31

C6 (MEDIO)	C2 (H24)	
Esperado	NEGATIVO	Total
AEROBIO	14	
ANAEROBIO	17	
Total	31	31

TABLA XXII
ESTERILIZACION IN VITRO: 5W

C6(MEDIO)	C3(H48)		
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	10	4	14
ANAEROBIO	16	1	17
Total	26	5	31

C6(MEDIO)	C3(H48)		
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	11.742	2.2581	
ANAEROBIO	14.258	2.7419	
Total	26	5	31

ESTADISTICA DE LA TABLA C6 POR C3

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	2.922	0.087
Ratio de probabilidad	1	3.034	0.082
Continuity Adj. Chi-Cuadrado	1	1.485	0.223
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	2.827	0.093
Test Exacto de Fisher(Izq)			0.112
(Der)			0.988
(2-Colas)			0.148
Coeficiente Phi		-0.307	
Coeficiente de contingencia		0.293	
V de Cramer		-0.307	

Talla de la muestra = 31

TABLA XXIII

ESTERILIZACION IN VITRO:5W

C6(MEDIO)	C4(H72)		Total
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	
AEROBIO	10	4	14
ANAEROBIO	16	1	17
Total	26	5	31

C6(MEDIO)	C4(H72)		Total
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	
AEROBIO	11.742	2.2581	
ANAEROBIO	14.258	2.7419	
Total	26	5	31

ESTADISTICA DE LA TABLA C6 POR C4

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	2.922	0.087
Ratio de probabilidad	1	3.034	0.082
Continuity Adj. Chi-Square	1	1.485	0.223
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	2.827	0.093
Test Exacto de Fisher(Izq)			0.112
(Der)			0.988
(2-Colas)			0.148
Coeficiente Phi		-0.307	
Coeficiente de Contingencia		0.293	
V de Cramer		-0.307	

Talla de la muestra = 31

TABLA XXIV
ESTERILIZACION IN VITRO:5W

C6(MEDIO)	C5(CULTIVO)		
Frecuencia	POSITIVO	ESTERIL	Total
AEROBIO	10	4	14
ANAEROBIO	16	1	17
Total	26	5	31

C6(MEDIO)	C5(CULTIVO)		
Esperado	POSITIVO	ESTERIL	Total
AEROBIO	11.742	2.2581	
ANAEROBIO	14.258	2.7419	
Total	26	5	31

ESTADISTICA DE LA TABLA C6 POR C5

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	2.922	0.087
Ratio de Probabilidad	1	3.034	0.082
Continuity Adj. Chi-Square	1	1.485	0.223
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	2.827	0.093
Test Exacto de Fisher(Izq)			0.112
(Der)			0.988
(2-Colas)			0.148
Coeficiente Phi		-0.307	
Coeficiente de Contingencia		0.293	
V de Cramer		-0.307	

Talla de la muestra = 31

TABLA XXV
ESTERILIZACION IN VITRO:10W

C6(MEDIO)	C2(H24)	
Frecuencia	NEGATIVO	Total
AEROBIO	18	18
ANAEROBIO	15	15
Total	33	33

C6(MEDIO)	C2(H24)	
Esperado	NEGATIVO	Total
AEROBIO	18	
ANAEROBIO	15	
Total	33	33

TABLA XXVI
ESTERILIZACION IN VITRO:10W

C6(MEDIO)	C3(H48)		
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	1	17	18
ANAEROBIO	0	15	15
Total	1	32	33

C6(MEDIO)	C3(H48)		
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	0.5455	17.455	
ANAEROBIO	0.4545	14.545	
Total	1	32	33

ESTADISTICA DE LA TABLA C6 POR C3

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	0.859	0.354
Ratio de Probabilidad	1	1.238	0.266
Continuity Adj. Chi-Square	1	0.000	1.000
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	0.833	0.361
Test Exacto de Fisher(Izq)			1.000
(Der)			0.545
(2-Colas)			1.000
Coeficiente Phi		0.161	
Coeficiente de contingencia		0.159	
V de Cramer		0.161	

Talla de la muestra = 33

TABLA XXVII

ESTERILIZACION IN VITRO:10W

C6(MEDIO)	C4(H72)		
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	1	17	18
ANAEROBIO	0	15	15
Total	1	32	33

C6(MEDIO)	C4(H72)		
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	0.5455	17.455	
ANAEROBIO	0.4545	14.545	
Total	1	32	33

ESTADISTICA DE LA TABLA C6 POR C4

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	0.859	0.354
Ratio de Probabilidad	1	1.238	0.266
Continuity Adj. Chi-Square	1	0.000	1.000
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	0.833	0.361
Test Exacto de Fisher(Izq)			1.000
(Der)			0.545
(2-Colas)			1.000
Coefficiente Phi		0.161	
Coefficiente de contingencia		0.159	
V de Cramer		0.161	
Talla de la muestra = 33			

TABLA XXVIII

ESTERILIZACION IN VITRO:10W

C6(MEDIO)	C5(CULTIVO)		
Frecuencia	POSITIVO	ESTERIL	Total
AEROBIO	1	17	18
ANAEROBIO	0	15	15
Total	1	32	33

C6(MEDIO)	C5(CULTIVO)		
Esperado	POSITIVO	ESTERIL	Total
AEROBIO	0.5455	17.455	
ANAEROBIO	0.4545	14.545	
Total	1	32	33

ESTADISTICA DE LA TABLA C6 POR C5

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	0.859	0.354
Ratio de probabilidad	1	1.238	0.266
Continuity Adj. Chi-Square	1	0.000	1.000
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	0.833	0.361
Test Exacto de Fisher(Izq)			1.000
(Der)			0.545
(2-Colas)			1.000
Coeficiente Phi		0.161	
Coeficiente de Contingencia		0.159	
V de Cramer		0.161	

Talla de la muestra = 33

TABLA XXIX

ESTERILIZACION IN VITRO: CONTROL

C6 (MEDIO)	C2 (H24)	
Frecuencia	POSITIVO	Total
AEROBIO	16	16
ANAEROBIO	15	15
Total	31	31

C6 (MEDIO)	C2 (H24)	
Esperado	POSITIVO	Total
AEROBIO	16	
ANAEROBIO	15	
Total	31	31

TABLA XXX
ESTERILIZACION IN VITRO: CONTROL

C6(MEDIO)	C3(H48)	
Frecuencia	POSITIVO	Total
AEROBIO	16	16
ANAEROBIO	15	15
Total	31	31

C6(MEDIO)	C3(H48)	
Esperado	POSITIVO	Total
AEROBIO	16	
ANAEROBIO	15	
Total	31	31

TABLA XXXI
ESTERILIZACION IN VITRO: CONTROL

C6(MEDIO)	C4(H72)	
Frecuencia	POSITIVO	Total
AEROBIO	16	16
ANAEROBIO	15	15
Total	31	31

C6(MEDIO)	C4(H72)	
Esperado	POSITIVO	Total
AEROBIO	16	
ANAEROBIO	15	
Total	31	31

TABLA XXXII
ESTERILIZACION IN VITRO: CONTROL

C6(MEDIO)	C5(CULTIVO)	
Frecuencia	POSITIVO	Total
AEROBIO	16	16
ANAEROBIO	15	15
Total	31	31

C6(MEDIO)	C5(CULTIVO)	
Esperado	POSITIVO	Total
AEROBIO	16	
ANAEROBIO	15	
Total	31	31

5.2.- Esterilización in vivo.

5.2.1.- Esterilización in vivo.
*** Descriptiva global.**

Los resultados que se agrupan en la siguiente Tabla (Tabla XVI), corresponden a los recogidos en la segunda fase de la experimentación, que tiene por objeto la confirmación o no del efecto esterilizante del láser de CO₂ in vivo mediante la realización de un estudio microbiológico, descrito con anterioridad en el apartado de Metodología.

Para estudiar la esterilización in vivo se ha diseñado una fase experimental consistente en la toma de una muestra para cultivo de 33 pacientes sometidos a intervención quirúrgica por patología periapical, inmediatamente expuesto el ápice radicular, y una segunda toma después de irradiación láser del periápice a 10 W de potencia.

La muestra integrante de esta fase constituye el denominado Grupo B, en número total de 66 muestras, considerándose con el mismo número la realización de una toma de cultivo pre-tratamiento y otra post-tratamiento en el mismo paciente.

La muestra nº 9 quedó desechada para su estudio en las primeras 24 horas por rotura de la probeta de incubación de la muestra post-tratamiento.

Ambas muestras PRE- y POST- tratamiento se someten a cultivo en medio de incubación haciéndose controles a las 24, 48 y 72 horas, así como un cultivo en placa posterior.

La recogida de los datos se realizó valorando como (+) la presencia de crecimiento y (-) el no crecimiento bacteriano de cada una de las muestras en los controles realizados a las 24, 48 y 72 horas, así como el cultivo posterior.

TABLA XXXIII. ESTERILIZACION IN VIVO

Nº	POTENCIA	24 h.	48 h.	72 h.	CULTIVO
1-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
2-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
3-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
4-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
5-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
6-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
7-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
8-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
9-PRE	10 W	+	A N U L A D O.....		
POST		ROTO	A N U L A D O.....		
10-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
11-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL

TABLA XXXIII. ESTERILIZACION IN VIVO

Nº	POTENCIA	24 h.	48 h.	72 h.	CULTIVO
12-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
13-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
14-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
15-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
16-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
17-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
18-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
19-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
20-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
21-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
22-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	+	+	POSITIVO

TABLA XXXIII. ESTERILIZACION IN VIVO

Nº	POTENCIA	24 h.	48 h.	72 h.	CULTIVO
23-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	+	+	POSITIVO
24-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
25-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	+	+	POSITIVO
26-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
27-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	+	+	POSITIVO
28-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	+	+	POSITIVO
29-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
30-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
31-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		+	+	+	POSITIVO
32-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL
33-PRE	10 W	+	+	+	POSITIVO
POST		-	-	-	ESTERIL

ESTERILIZACION IN VIVO.

	MEDIO AEROBIO	MEDIO ANAEROBIO
10 W	1 a 16	17 a 33

Se procede, en primer lugar, a un estudio porcentual global, en función de la toma de la muestra, PRE- o POST- tratamiento, en los diferentes tiempos control H24, H48 y H72, así como en el cultivo en placa.

Todas las muestras PRE- tratamiento presentan crecimiento bacteriana POSITIVO desde las primeras 24 horas, manteniéndose en los controles posteriores a las 48 y 72 horas, así como en el cultivo posterior. (Figura nº 32).

TABLA XXXIV

Resultados de las muestras PRE- tratamiento en los tiempos control y en el cultivo.

		Frecuencia		Porcentaje	
H24	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado	
POSITIVO	32	100	32	100	

RESULTADOS

272

			Frecuencia	Porcentaje
H48	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
<hr/>				
POSITIVO	32	100	32	100

			Frecuencia	Porcentaje
H72	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
<hr/>				
POSITIVO	32	100	32	100

			Frecuencia	Porcentaje
CULTIVO	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
<hr/>				
POSITIVO	32	100	32	100

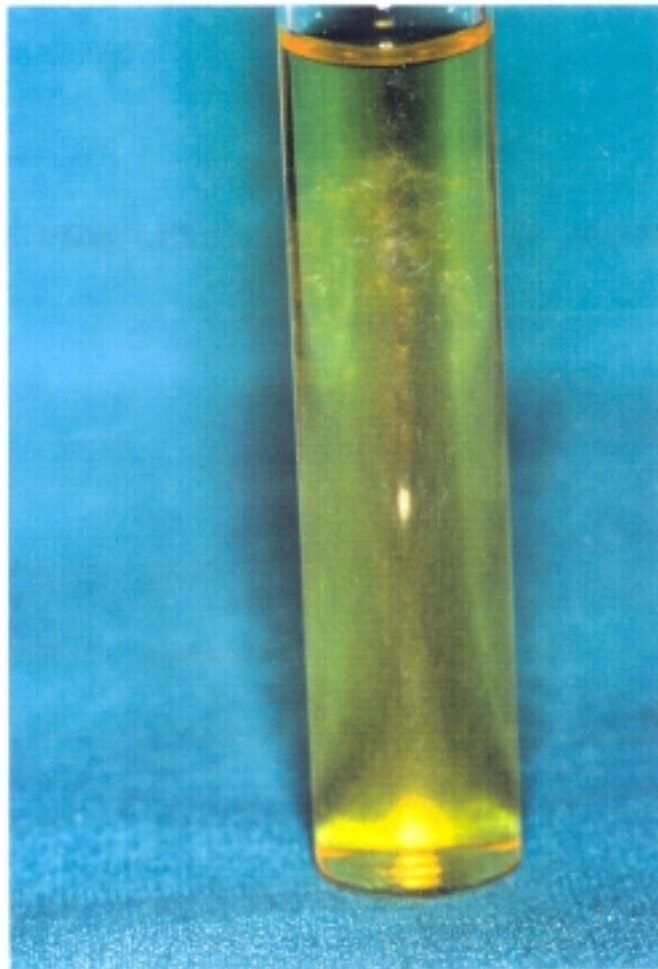


Figura n° 32: Tubo de ensayo con medio de enriquecimiento thioglicolato modificado con hemina y vitamina K₁ conteniendo una muestras PRE- tratamiento.

El grupo de muestras POST- tratamiento presenta un comportamiento diferente que resumimos en la tabla siguiente:

TABLA XXXV

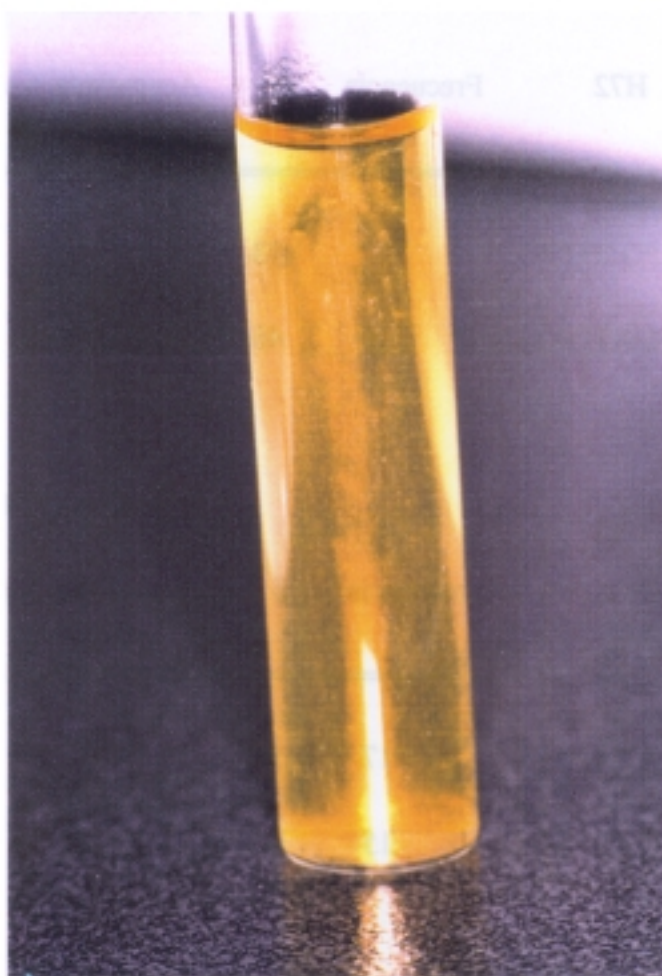
Resultados de las muestras POST- tratamiento en los tiempos control y en el cultivo.

			Frecuencia	Porcentaje
H24	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	12	37.5	12	37.5
NEGATIVO	20	62.5	32	100.0

			Frecuencia	Porcentaje
H48	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	17	53.1	17	53.1
NEGATIVO	15	46.9	32	100.0

H72			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	17	53.1	17	53.1
NEGATIVO	15	46.9	32	100.0

CULTIVO			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	17	53.1	17	53.1
NEGATIVO	15	46.9	32	100.0



**Figura nº 33: Tubo de ensayo con medio de enriquecimiento
thioglicolato modificado con hemina y vitamina K₁ conteniendo una
muestra POST- tratamiento.**

Como vemos en la tabla en las primeras 24 h. el 62.5% de la muestra (20 de 32) POST- tratamiento no presentó crecimiento en medio de incubación (esterilidad). A partir del segundo control a las 48h. este porcentaje disminuyó hasta el 46.9% (15 de 32), manteniéndose en este rango a las 72 horas (H72_POST) y en el cultivo en placa posterior.

Analizando los resultados comparativamente en H24 y H48-H72, no encontramos diferencias estadísticamente significativas, si bien las diferencias halladas tienen un $p < 0.074$, casi significativo. (Epígrafe 5.2.3. Estadística Analítica).

Al realizar un análisis estadístico comparativo entre los grupos PRE_ y POST_ tratamiento en su conjunto, encontramos que existe una diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento aplicado y los resultados obtenidos, 100% de positividades en el grupo PRE_, frente a un 37.5% en el grupo POST_ en H24, y 100% de positividades del grupo PRE_ frente a un 53.1% del grupo POST_ en H48, H72 y el cultivo.

5.2.2.- Esterilización in vivo.

**_* Descriptiva por
grupos : - Medio**

El medio de cultivo utilizado se distribuye de manera homogénea como se demuestra en la tabla siguiente:

TABLA XXXVI

Distribución de las muestras según el MEDIO.

MEDIO	Frecuencia		Porcentaje	
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
AEROBIO	15	46.9	15	46.9
ANAEROBIO	17	53.1	32	100.0

Si estudiamos las muestras PRE- y POST- tratamiento en los tiempos control y según el medio de cultivo obtenemos los siguientes resultados:

TABLA XXXVII

Distribución de las muestras PRE- y POST- tratamiento en medio aerobio para H24, H48, H72 y cultivo.

PRE_	Frecuencia		Frecuencia	
	Frecuencia	%	Acumulada	Porcentaje
POSITIVO	15	100	15	100

POST_	Frecuencia		Frecuencia	
	Frecuencia	%	Acumulada	Porcentaje
POSITIVO	6	40.0	6	40.0
NEGATIVO	9	60.0	15	100.0

El 100% de las muestras PRE- tratamiento presentan crecimiento bacteriano en medio aerobio, en todos los tiempos control, así como en el cultivo posterior.

El comportamiento de las muestras POST- tratamiento en medio aerobio, refleja que un 60% de las mismas se valoran como crecimiento bacteriano negativo en el primer control a las 24 horas (H24_POST), manteniéndose en estas condiciones en los controles H48_POST y H72_POST, así como en el cultivo en placa posterior.

TABLA XXXVIII

Distribución de las muestras PRE- y POST- tratamiento en medio anaerobio para H24, H48, H72 y Cultivo.

PRE_			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	17	100	17	100

H24_POST			Frecuencia	Porcentaje
	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	6	35.3	6	35.3
NEGATIVO	11	64.7	17	100.0

RESULTADOS

284

			Frecuencia	Porcentaje
H48_POST	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	11	64.7	11	64.7
NEGATIVO	6	35.3	17	100.0

			Frecuencia	Porcentaje
H72_POST	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	11	64.7	11	64.7
NEGATIVO	6	35.3	17	100.0

			Frecuencia	Porcentaje
CULTIVO	Frecuencia	%	Acumulada	Acumulado
POSITIVO	11	64.7	11	64.7
NEGATIVO	6	35.3	17	100.0

El 100% de las muestras PRE- tratamiento presentan crecimiento bacteriano en medio anaerobio, en todos los tiempos control, así como en el cultivo posterior.

El comportamiento de las muestras POST- tratamiento en medio anaerobio, refleja que un 64.7% de las mismas se valoran como crecimiento bacteriano negativo en el primer control a las 24 horas (H24_POST), variando estas condiciones en los controles H48_POST y H72_POST, así como en el cultivo en placa posterior, reduciéndose el porcentaje de negatividades de crecimiento bacteriano a un 35.3%, 6 de 17 muestras, ascendiendo de modo inverso el porcentaje de positivities de crecimiento del 35.3% en H24_POST al 64.7% en H48_POST, H72_POST y el cultivo posterior.

En la Tabla siguiente observamos las variaciones sufridas por las muestras que se valoraron como crecimiento negativo en los diferentes tiempos control en función del medio.

TABLA XXXIX

TIEMPO	M. AEROBIO	M. ANAEROBIO
H24	60%	64.7%
H48	60%	35.3%
H72	60%	35.3%

Estas variaciones porcentuales no se pueden demostrar como estadísticamente significativas. En todo caso observamos que en medio aerobio se mantiene el número de casos que presentaron crecimiento bacteriano negativo en H24_POST, a las 48 y 72 horas, mientras que en medio anaerobio a las 48 horas se positivizan 5 de 11 (45%) casos que en H24_POST eran negativos, manteniéndose positivos en H72 y en cultivo posterior.

5.2.3.- Esterilización in vivo.

*** Estadística Analítica**

TABLA XL
ESTERILIZACION IN VIVO

C9(MEDIO)	C5(H24_POST)		
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	6	9	15
ANAEROBIO	6	11	17
Total	12	20	32

C9(MEDIO)	C5(H24_POST)		
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	5.625	9.375	
ANAEROBIO	6.375	10.625	
Total	12	20	32

ESTADISTICA DE LA TABLA C9 POR C5

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	0.075	0.784
Ratio de Probabilidad	1	0.075	0.784
Continuity Adj. Chi-Cuadrado	1	0.000	1.000
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	0.073	0.787
Test Exacto de Fisher (Izq)			0.739
(Der)			0.536
(2-Colas)			1.000
Coefficiente Phi		0.049	
Coefficiente de Contingencia		0.048	
V de Cramer		0.049	

Talla de muestra = 32

TABLA XLI
ESTERILIZACION IN VIVO

C9 (MEDIO)	C6 (H48_POST)		
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	6	9	15
ANAEROBIO	11	6	17
Total	17	15	32

C9 (MEDIO)	C6 (H48_POST)		
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	7.9688	7.0313	
ANAEROBIO	9.0313	7.9688	
Total	17	15	32

ESTADISTICA DE LA TABLA C9 POR C6

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	1.953	0.162
Ratio de Probabilidad	1	1.972	0.160
Continuity Adj. Chi-Cuadrado	1	1.087	0.297
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	1.892	0.169
Test Exacto de Fisher (Izq)			0.149
(der)			0.961
(2-Colas)			0.287
Coeficiente Phi		-0.247	
Coeficiente de Contingencia		0.240	
V de Cramer		-0.247	

Talla de muestra = 32

TABLA XLII
ESTERILIZACION IN VIVO

C9(MEDIO)	C7(H72_POST)		
Frecuencia	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	6	9	15
ANAEROBIO	11	6	17
Total	17	15	32

C9(MEDIO)	C7(H72_POST)		
Esperado	POSITIVO	NEGATIVO	Total
AEROBIO	7.9688	7.0313	
ANAEROBIO	9.0313	7.9688	
Total	17	15	32

ESTADISTICA DE LA TABLA C9 POR C7

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	1.953	0.162
Ratio de Probabilidad	1	1.972	0.160
Continuity Adj. Chi-Cuadrado	1	1.087	0.297
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	1.892	0.169
Test Exacto de Fisher (Izq)			0.149
(Der)			0.961
(2-Colas)			0.287
Coefficiente Phi		-0.247	
Coefficiente de Contingencia		0.240	
V de Cramer		-0.247	

Talla de muestra = 32

TABLA XLIII
ESTERILIZACION IN VIVO

C9 (MEDIO)	C8 (CULTIVO_POST)		
Frecuencia	POSITIVO	ESTERIL	Total
AEROBIO	6	9	15
ANAEROBIO	11	6	17
Total	17	15	32

C9 (MEDIO)	C8 (CULTIVO_POST)		
Esperado	POSITIVO	ESTERIL	Total
AEROBIO	7.9688	7.0313	
ANAEROBIO	9.0313	7.9688	
Total	17	15	32

ESTADISTICA DE LA TABLA C9 POR C8

Estadística	DF	Valor	Prob
Chi-Cuadrado	1	1.953	0.162
Ratio de Probabilidad	1	1.972	0.160
Continuity Adj. Chi-Cuadrado	1	1.087	0.297
Mantel-Haenszel Chi-Cuadrado	1	1.892	0.169
Test Exacto de Fisher (Izq)			0.149
(Der)			0.961
(2-Colas)			0.287
Coeficiente Phi		-0.247	
Coeficiente de Contingencia		0.240	
V de Cramer		-0.247	

Talla de muestra = 32

TABLA XLIV

ESTERILIZACION IN VIVO
24H POST /48H POST AEROBIOS

Frecuencia	1	2	Total
1	6	0	6
2	0	9	9
Total	6	9	15

MACNEMAR P

TABLA XLV

ESTERILIZACION IN VIVO
24H POST /48H POST ANAEROBIOS

Frecuencia	1	2	Total
1	6	0	6
2	5	6	11
Total	11	3	17

MACNEMAR P

3.2 0.073638

TABLA XLVI
ESTERILIZACION IN VIVO
24H POST /48H POST

24H	48H		
Frecuencia	1	2	Total
1	12	0	12
2	5	15	20
Total	17	15	32

MACNEMAR	P
3.2	0.073638

5.3.- Vitricación.

Los resultados que se agrupan en la Tabla XLVII, corresponden a los recogidos en la tercera fase de la experimentación, que tiene por objeto la confirmación o no del efecto vitrificante del láser de CO_2 in vitro mediante la realización de un estudio microbiológico.

La muestra integrante de esta fase constituye el denominado Grupo C, en número total de 94, considerándose tres subgrupos C_1 , C_2 , y C_3 distribuidos al azar, con un muestra total, cada una de 31 dientes, así como un control, que denominamos CONTROL-AB, nº 94, en el que se valora la producción de un halo de inhibición por la Rifocina per se.

Valoramos como HALO POSITIVO en todos los grupos cuando se produce una inhibición del crecimiento bacteriano en la placa de cultivo y como HALO NEGATIVO en caso contrario. Este halo de inhibición aparece de forma circunferencial al ápice del diente.

TABLA XLVII
VITRIFICACION. ESTUDIO MICROBIOLOGICO.

Nº	POTENCIA	CULTIVO 24 h.
1	CONTROL	HALO POSITIVO
2	CONTROL	HALO POSITIVO
3	10 W	HALO POSITIVO
4	10 W	HALO POSITIVO
5	15 W	HALO POSITIVO
6	15 W	HALO POSITIVO
7	15 W	HALO POSITIVO
8	15 W	HALO POSITIVO
9	15 W	HALO POSITIVO
10	15 W	HALO POSITIVO
11	15 W	HALO POSITIVO
12	15 W	HALO POSITIVO
13	15 W	HALO POSITIVO
14	15 W	HALO POSITIVO
15	10 W	HALO POSITIVO
16	10 W	HALO POSITIVO
17	10 W	HALO POSITIVO
18	10 W	HALO POSITIVO
19	10 W	HALO POSITIVO
20	10 W	HALO POSITIVO
21	10 W	HALO POSITIVO
22	10 W	HALO POSITIVO

Nº	POTENCIA	CULTIVO 24 h.
23	15 W	HALO POSITIVO
24	15 W	HALO POSITIVO
25	15 W	HALO POSITIVO
26	15 W	HALO POSITIVO
27	15 W	HALO POSITIVO
28	15 W	HALO POSITIVO
29	15 W	HALO POSITIVO
30	15 W	HALO POSITIVO
31	15 W	HALO POSITIVO
32	15 W	HALO POSITIVO
33	10 W	HALO POSITIVO
34	10 W	HALO POSITIVO
35	10 W	HALO POSITIVO
36	10 W	HALO POSITIVO
37	10 W	HALO POSITIVO
38	10 W	HALO POSITIVO
39	10 W	HALO POSITIVO
40	10 W	HALO POSITIVO
41	CONTROL	HALO POSITIVO
42	CONTROL	HALO POSITIVO
43	CONTROL	HALO POSITIVO
44	CONTROL	HALO POSITIVO
45	CONTROL	HALO POSITIVO
46	CONTROL	HALO POSITIVO

Nº	POTENCIA	CULTIVO 24 h.
47	10 W	HALO POSITIVO
48	10 W	HALO POSITIVO
49	15 W	HALO POSITIVO
50	10 W	HALO POSITIVO
51	CONTROL	HALO POSITIVO
52	CONTROL	HALO POSITIVO
53	CONTROL	HALO POSITIVO
54	CONTROL	HALO POSITIVO
55	CONTROL	HALO POSITIVO
56	CONTROL	HALO POSITIVO
57	10 W	HALO POSITIVO
58	10 W	HALO POSITIVO
59	CONTROL	HALO POSITIVO
60	CONTROL	HALO POSITIVO
61	10 W	HALO POSITIVO
62	10 W	HALO POSITIVO
63	15 W	HALO POSITIVO
64	15 W	HALO POSITIVO
65	15 W	HALO POSITIVO
66	15 W	HALO POSITIVO
67	15 W	HALO POSITIVO
68	15 W	HALO POSITIVO
69	15 W	HALO POSITIVO
70	15 W	HALO POSITIVO

RESULTADOS

301

Nº	POTENCIA	CULTIVO 24 h.
71	15 W	HALO POSITIVO
72	15 W	HALO POSITIVO
73	10 W	HALO POSITIVO
74	10 W	HALO POSITIVO
75	10 W	HALO POSITIVO
76	10 W	HALO POSITIVO
77	10 W	HALO POSITIVO
78	10 W	HALO POSITIVO
79	CONTROL	HALO POSITIVO
80	CONTROL	HALO POSITIVO
81	CONTROL	HALO POSITIVO
82	CONTROL	HALO POSITIVO
83	CONTROL	HALO POSITIVO
84	CONTROL	HALO POSITIVO
85	CONTROL	HALO POSITIVO
86	CONTROL	HALO POSITIVO
87	CONTROL	HALO POSITIVO
88	CONTROL	HALO POSITIVO
89	CONTROL	HALO POSITIVO
90	CONTROL	HALO POSITIVO
91	CONTROL	HALO POSITIVO
92	CONTROL	HALO POSITIVO
93	CONTROL	HALO POSITIVO
94	CONTROL-AB	HALO POSITIVO

Para el estudio de la Vitricación mediante análisis microbiológico se recogió una muestra total consistente en 93 dientes, a los que se les aplicó diferente tratamiento, quedando distribuidos al azar según muestra la tabla XLVIII:

TABLA XLVIII

Tratamiento	Frecuencia	%
10W	31	33.3
15W	31	33.3
CONTROL	31	33.3

La potencia de aplicación láser se mantiene en estas constantes para cada uno de los grupos, a lo largo del estudio.

Tras la aplicación del láser se recogen muestras que se incuban, en medio específico para streptococo mitis salivaris realizándose

un control a las 24 h. para evidenciar la existencia o no del halo inhibitorio. En ningún caso se precisaron controles a tiempos posteriores.

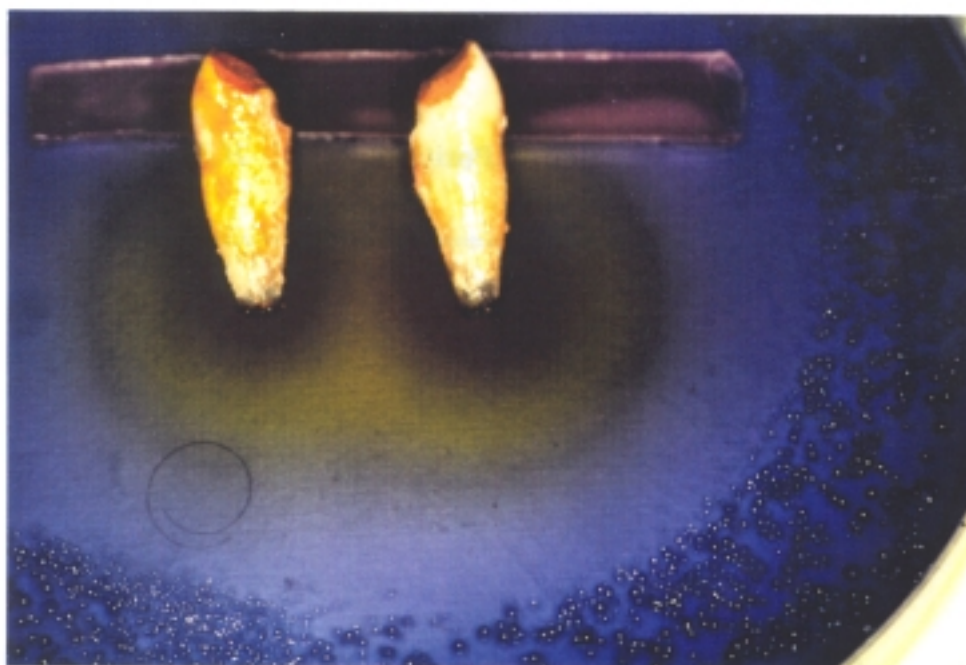
En la tabla XLIX presentamos los resultados obtenidos en función del tratamiento aplicado. Podemos observar que en el 100% de la muestra global se presentó un halo inhibitorio del crecimiento del streptococo mitis salivaris. (Figura nº 34)

TABLA XLIX

Tratamiento	H.Positivo	H.Negativo
10W	100%	0%
15W	100%	0%
CONTROL	100%	0%

Al realizar el análisis estadístico encontramos que no existe una asociación estadísticamente significativa entre el tratamiento aplicado y los resultados obtenidos. Los tres grupos de estudio presentaron un

100% de positividades en la aparición del halo de inhibición.



**Figura n° 34: Aspecto de las muestras en medio de cultivo
independientemente del grupo valorado.**

5.4. Vitrificación.
Estudio Estructural.

Si en la tercera fase experimental pretendimos comprobar la eficacia del sellado apical en la muestra seleccionada para su tratamiento mediante láser CO_2 , diseñando una experimentación de índole microbiológica, como en fases anteriores, en las que estudiamos el efecto esterilizante, en esta cuarta fase hemos visualizado macroscópica y ultraestructuralmente, por una parte las modificaciones que la energía láser produce en la dentina radicular, y por otra si estas modificaciones son suficientes para obturar completamente los conductillos accesorios y el conducto principal del ápice dentario.

Hemos seleccionado un grupo control (sin tratamiento láser), dos grupos principales en los que aplicamos potencias láser de 10 y 15 W respectivamente, y un grupo testigo en el que utilizamos potencias de 1, 5 y 20 W, para comprobar las variaciones estructurales entre ambos límites de potencia.

El estudio de las muestras mediante lupa estereoscópica y microscopía electrónica de barrido pretendió evidenciar la capacidad vitrificante de la luz láser y las modificaciones estructurales de la dentina radicular en el bisel apical, y si estas modificaciones presentaban características de uniformidad, de tal modo que pudiera considerarse un sellado completo de los conductillos secundarios y del conducto principal, y asimismo si esta capacidad de la luz láser esta en función de la potencia aplicada o no.

En el Grupo Control, se examinaron dientes en los que se realizó un bisel apical, pero no se trataron mediante láser CO₂.

El aspecto macroscópico del bisel nos permite comprobar la forma, dimensión y localización del conducto radicular, así como las características morfológicas de la dentina radicular. (Figura n° 35)

En los grupos láser D₂ (10 W), D₃ (15W), y D₄ (grupo testigo: 1, 5 y 20 W) evidenciamos los efectos de los diferentes impactos láser sobre el bisel apical. (Figuras n° 36, 37, 38 y 39)

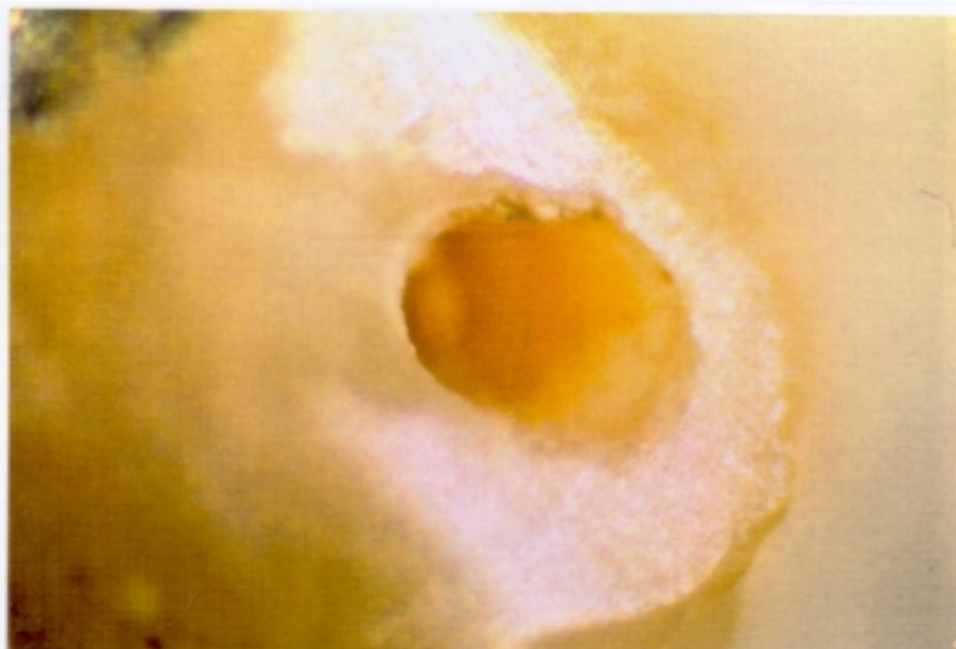


Figura n° 35: Aspecto macroscópico del ápice dentario tras la realización de un bisel apical.

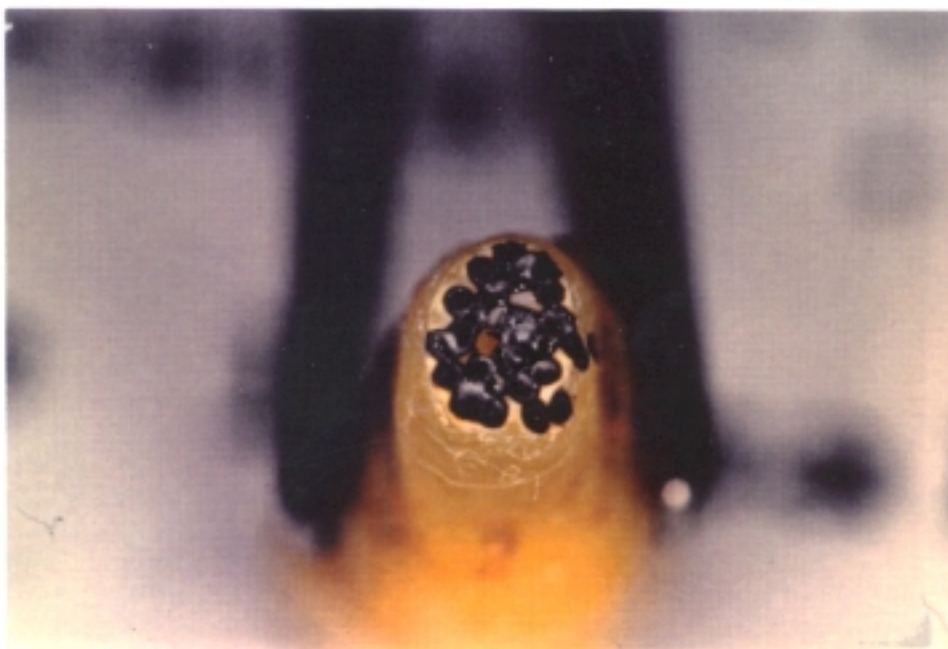


Figura n° 36: Aspecto macroscópico del bisel apical tras la interacción del láser a 5 W de potencia.

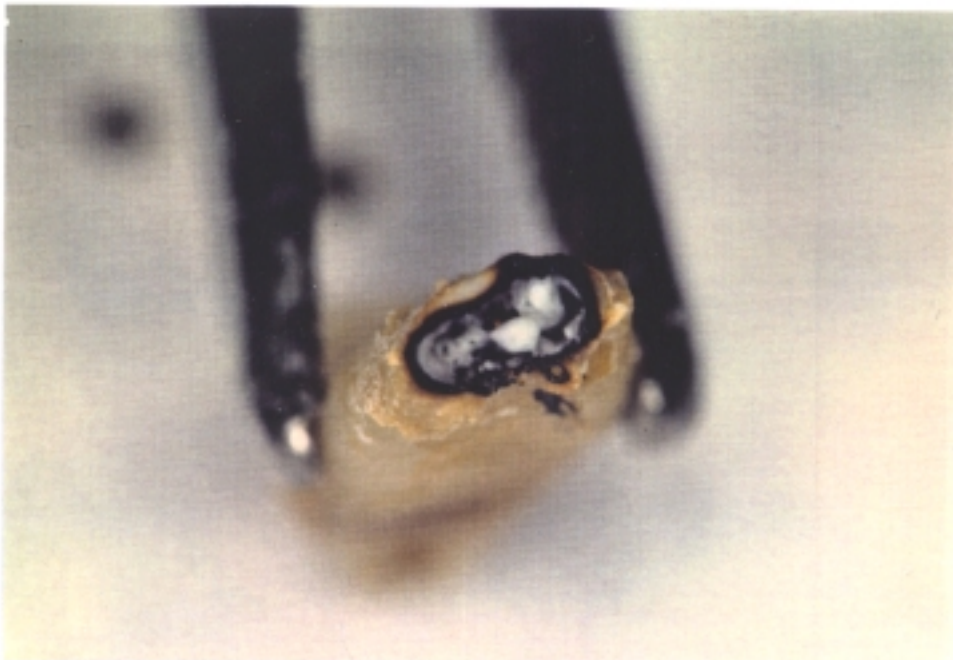


Figura n° 37: Aspecto macroscópico del bisel apical tras la interacción del láser a 10 W de potencia.

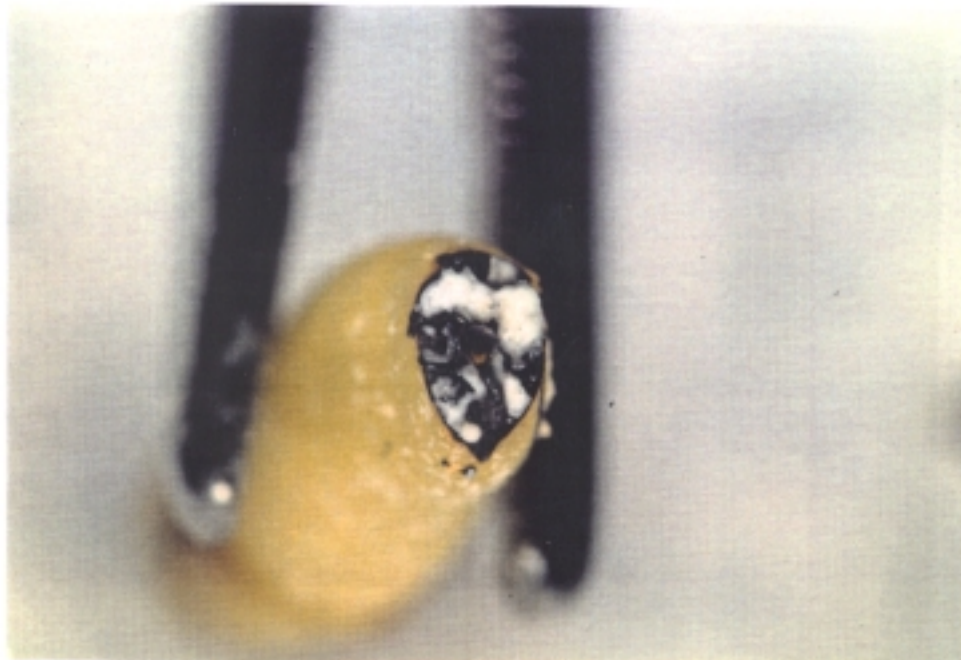


Figura n° 38: Aspecto macroscópico del bisel apical tras la interacción del láser a 15 W de potencia.

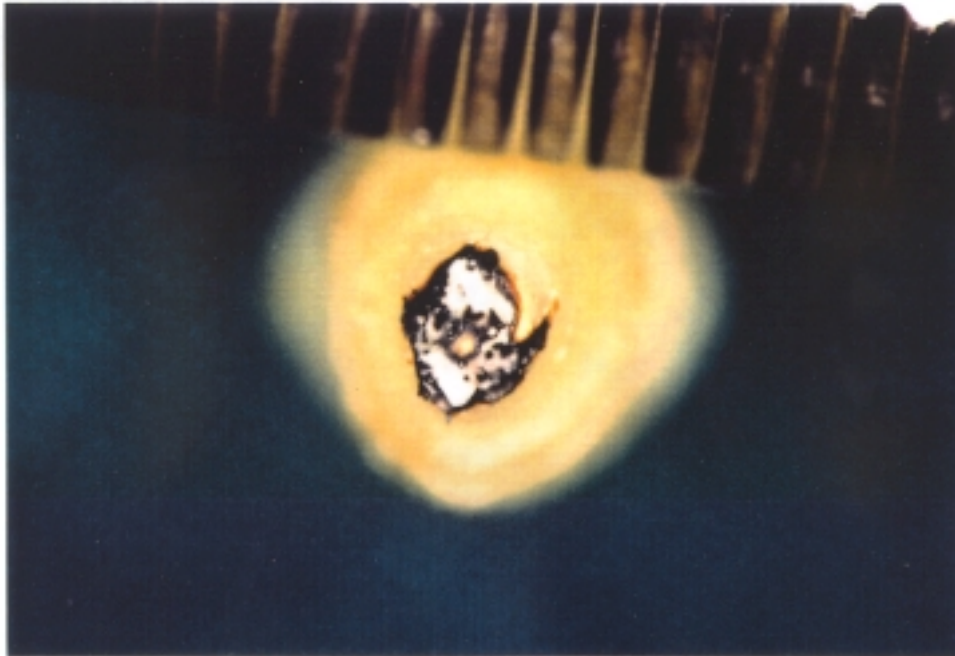


Figura n° 39: Aspecto macroscópico del bisel apical tras la interacción del láser a 20 W de potencia.

En líneas generales, y de forma independiente a la potencia utilizada, se producen una serie de modificaciones de la estructura cemento-dentinaria que consideramos a continuación.

Cada impacto láser crea un cráter en la dentina radicular en el que se distinguen una sucesión de estructuras que denominados área de impacto. (Figura n° 40)

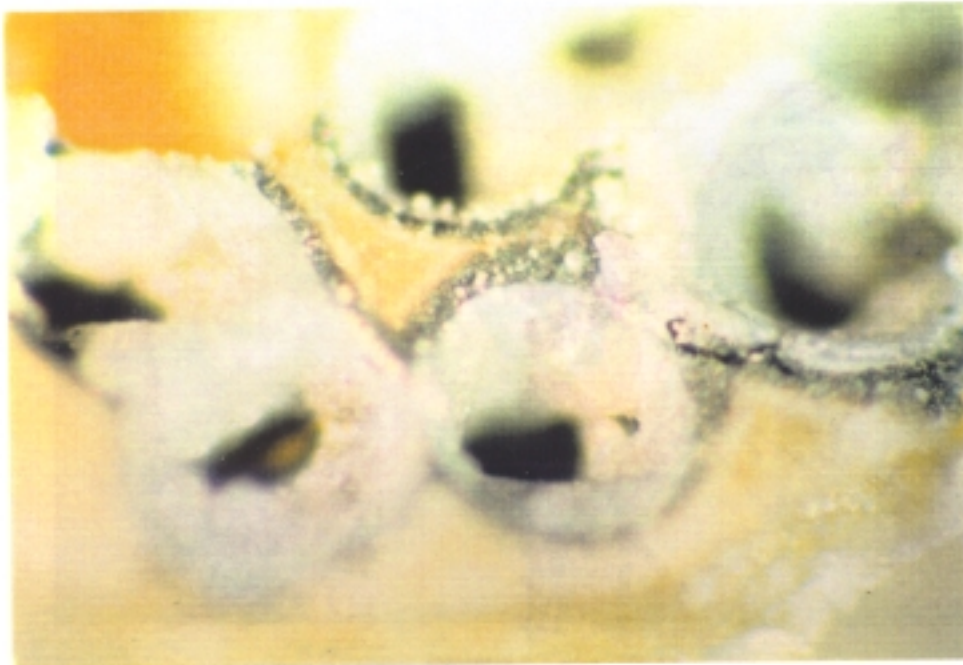


Figura n° 40: Cráter formado por un impacto láser en el bisel apical.

(x 20)

Cada área de impacto presenta una primera zona de cristalización o vitrificación irregular, que cubre las paredes, bordes y fondo del cráter. Una segunda zona periférica de carbonización tisular y una tercera zona más externa de rarefacción o de compromiso térmico. En último termino en zonas más exteriores aparece dentina sin alteraciones.

(Figura n° 41)

Con Microscopía Electrónica de Barrido se ponen de manifiesto cada una de estas zonas, observándose incluso, una falta de continuidad entre la capa de cristalización y la de carbonización, entre las que aparecen fisuras manifiestas. (Figura n° 42 y 43)

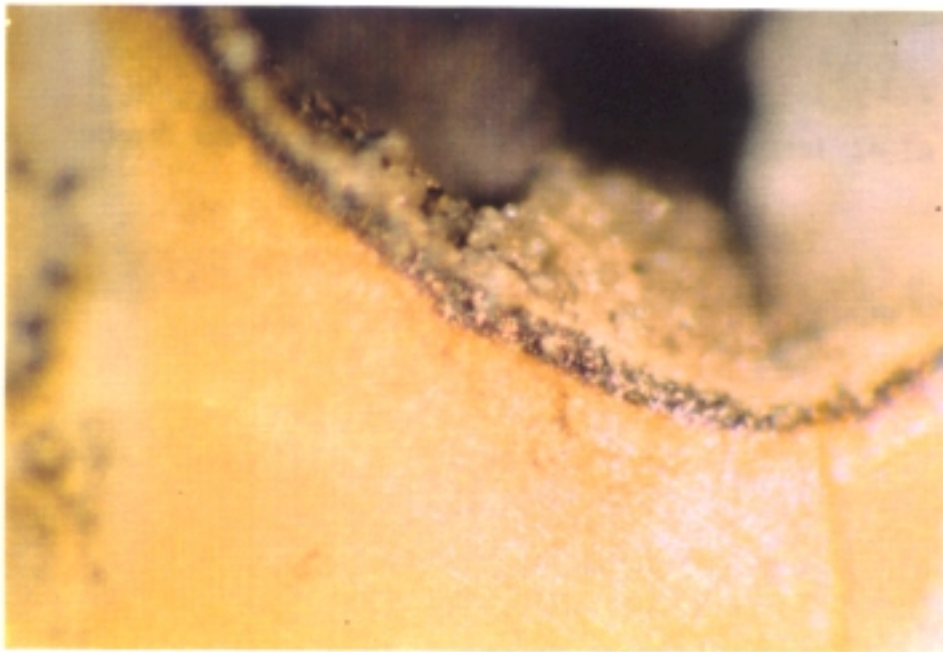


Figura n° 41: Diversas zonas en área de impacto láser. (x 20)

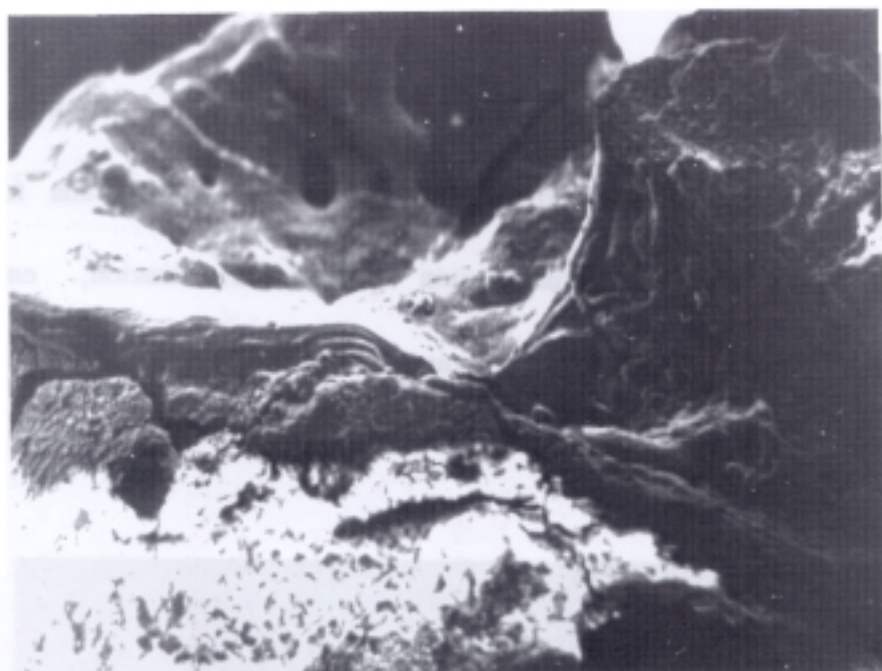


Figura nº 42: Imagen de M.E.B. de un cráter con sus diversas zonas en área de impacto (x 90).

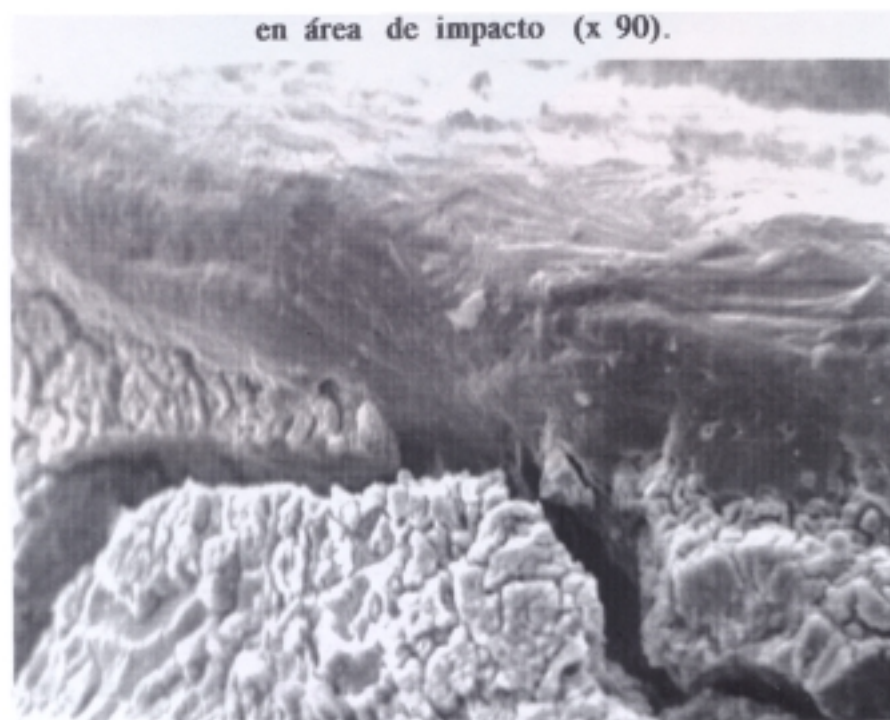


Figura nº 43: Presencia de fisuras entre las zonas de cristalización y carbonización. Imagen de M.E.B. (x 400)

Las áreas de cristalización permiten distinguir zonas más o menos amplias de fusión dentinaria (Figura nº 44), que se alternan con otras zonas que adquieren un aspecto de "perlas", o "bolutas", independientes entre sí. (Figura nº 45)

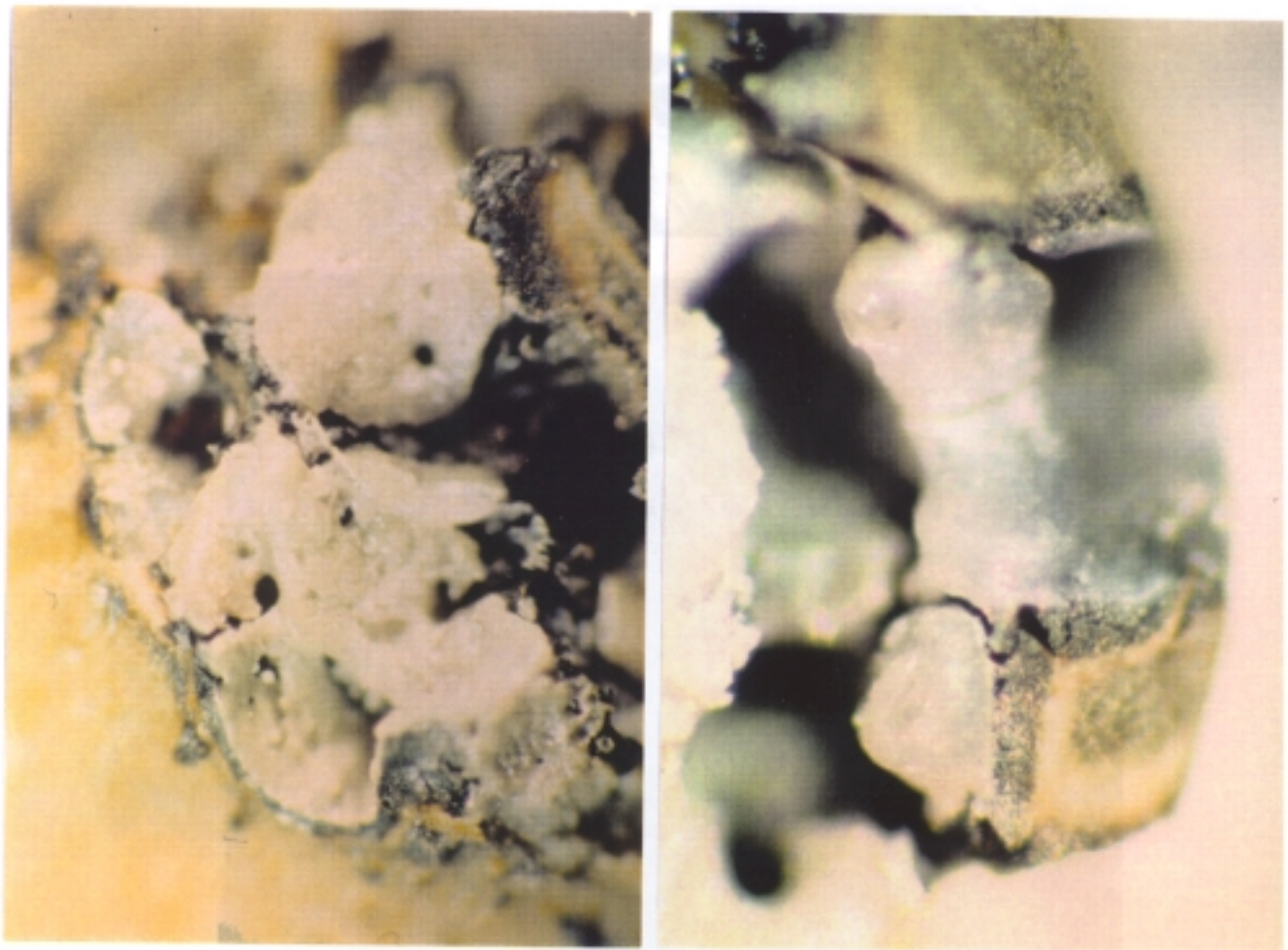


Figura nº 44: Areas de cristalización fusionadas. (x 20). Bisel apical tras interacción láser a 10 W de potencia.

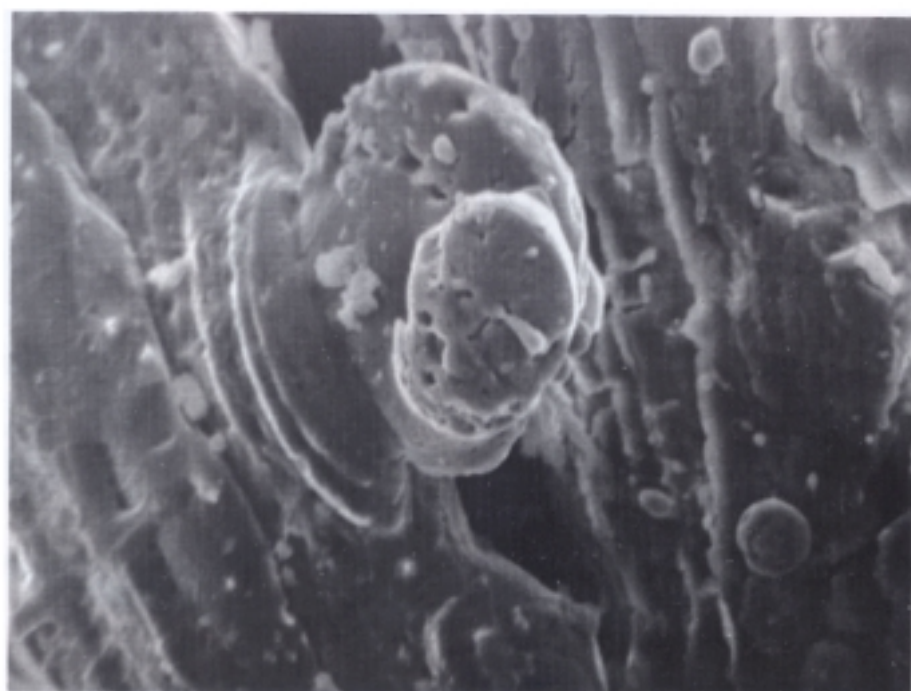
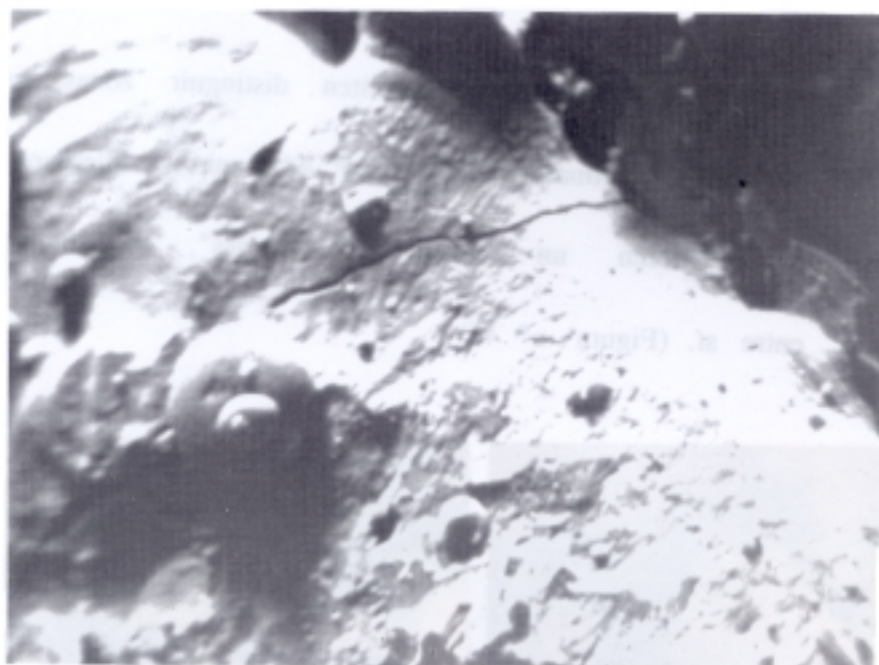


Figura nº 45: Imagen de M.E.B. de zona de vitrificación. Imagen "en perlas" o "bolutas". (Imagen superior x 300; imagen inferior x 2000)

El aspecto ultraestructural de las placas de dentina vitrificada presenta gran homogeneidad en zonas, con aspecto cristalino más o menos organizado (Figura nº 46).

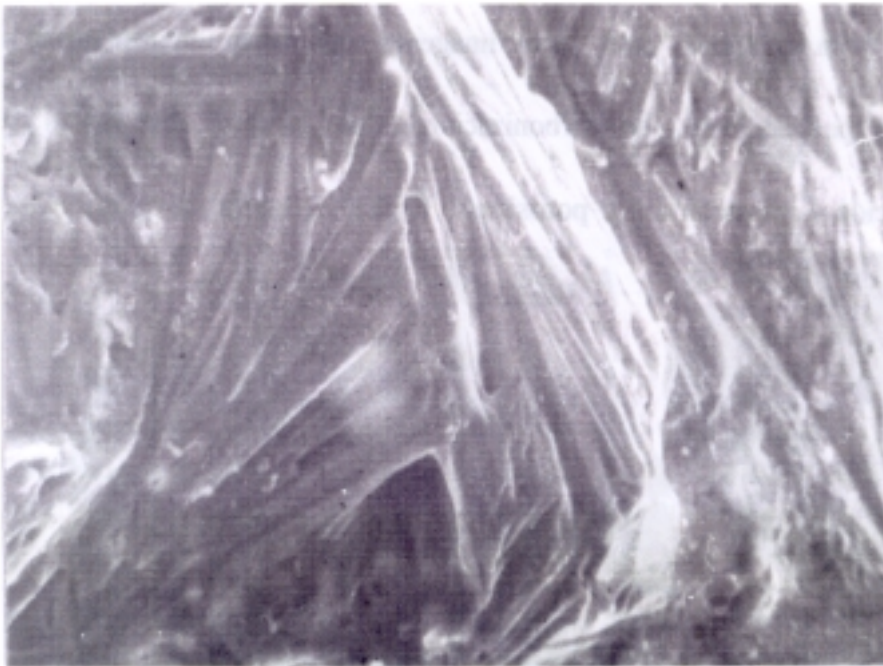


Figura nº 46: Zona de vitrificación en visión de M.E.B. x 1000.
Obsérvese el aspecto de cristalización uniforme que se aprecia en la
placa de vitrificación.

RESULTADOS

Existen otras zonas, sin embargo en las que aparecen orificios que pudieran corresponder a canalículos secundarios completamente libres, e incluso fisuras entre las placas de cristalización, que llegan a seccionarlas completamente. (Figuras nº 47 y 48)

En cualquier caso, estas imágenes contrastan enormemente con la ofrecida por la zona de carbonización, en la que observamos gran desorganización estructural y porosidad tisular. (Figura nº 49)

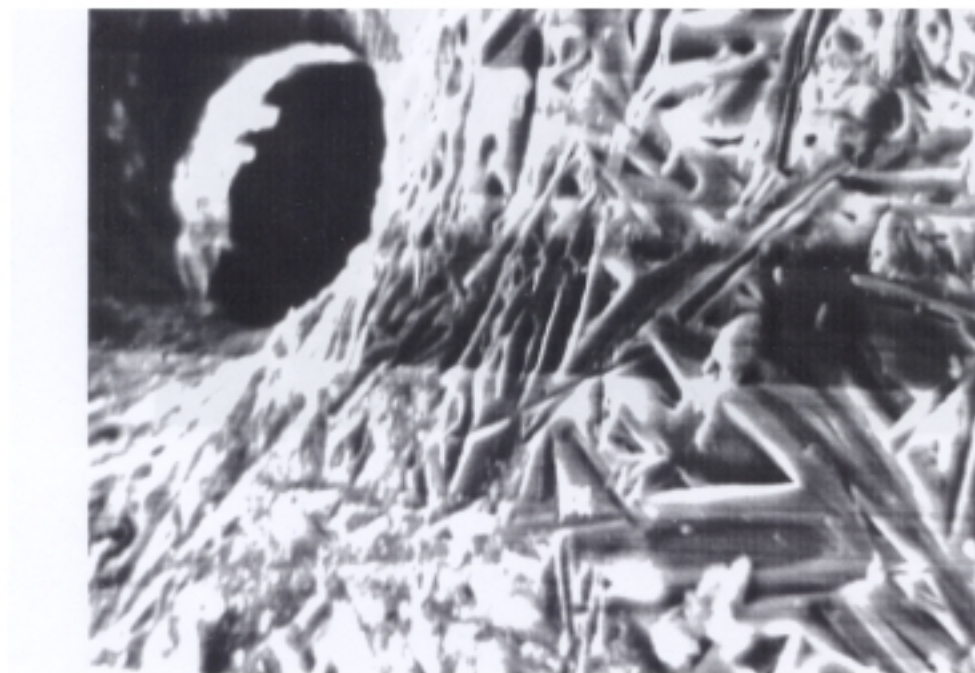


Figura nº 47: Zona de cristalización en visión de M.E.B. x 1500 en la que se aprecia un orificio en medio de una placa de cristalización que pudiera corresponder con un canalículo secundario.

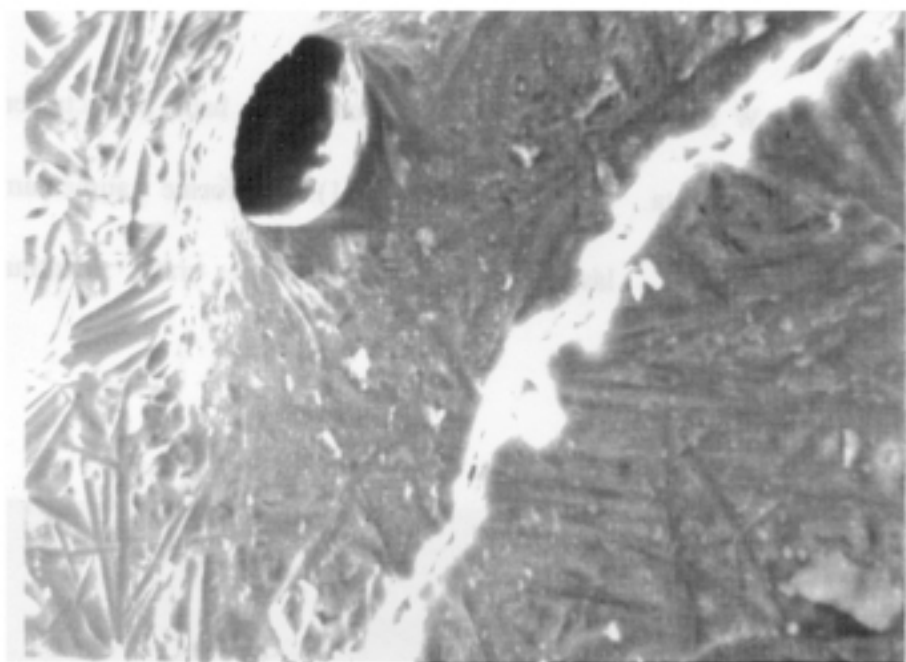


Figura nº 48: Zona de cristalización en visión de M.E.B. x 1000 en la que se aprecia la presencia de un orificio y una fisura.

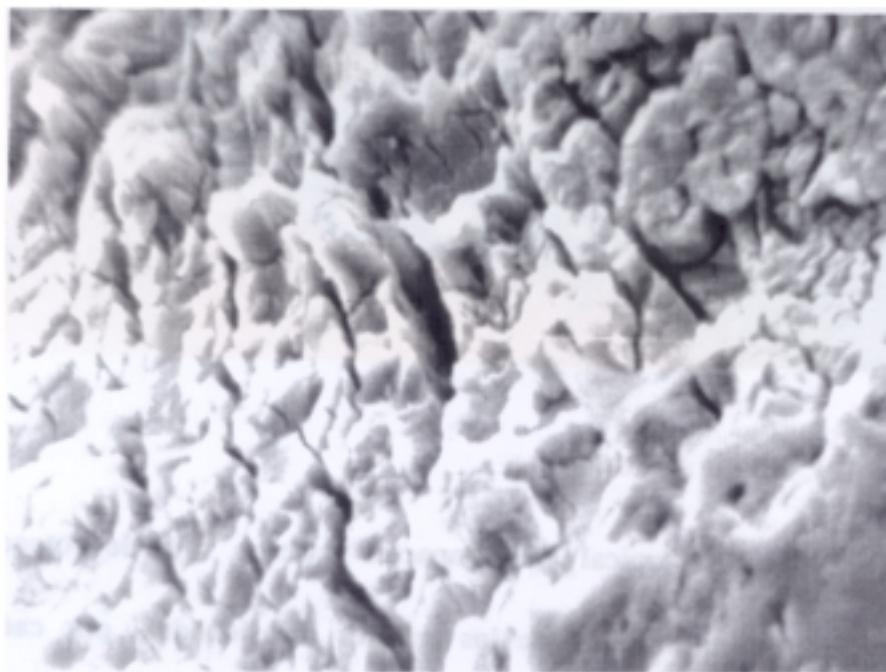


Figura 49: Zona de carbonización en visión de M.E.B. x 1000.

Con 1 W de potencia el fondo del cráter se hace perfectamente visible, en forma de meseta. (Figuras nº 50 y 51). Conforme aumentamos la potencia de aplicación láser la profundidad del cráter dentinario aumenta.

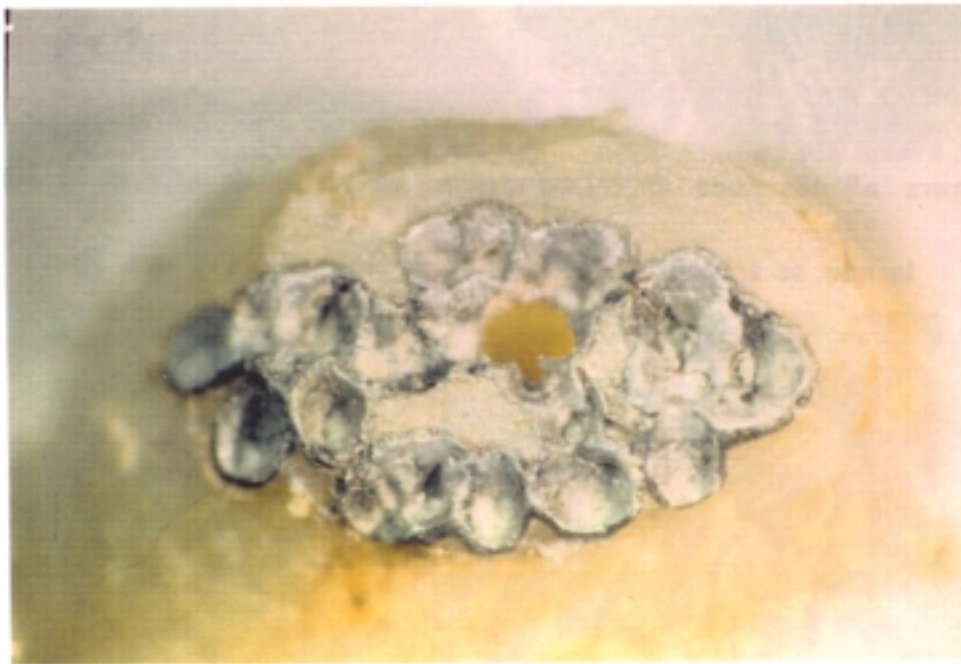


Figura nº 50: Bisel apical tras impactos láser a 1 W de potencia.

Obsérvese la perfecta nitidez de los cráteres ocasionados por cada uno de los impactos láser.

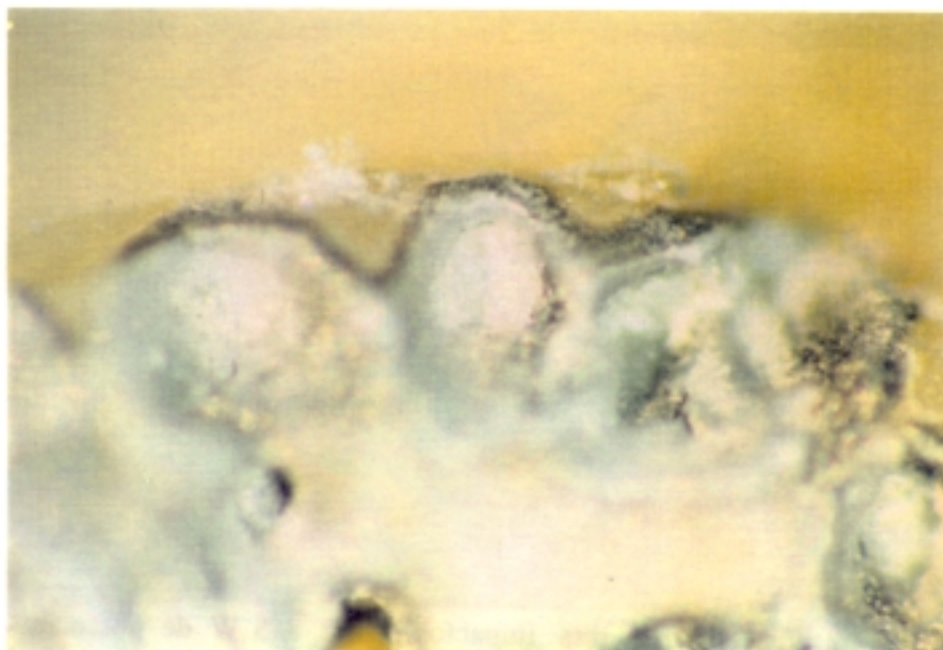


Figura n° 51: Imagen de la figura anterior en detalle para observar la poca profundidad de los cráter producidos por los diversos impactos.

A partir de 5 W de potencia el fondo del cráter adquiere mayor profundidad, haciéndose cada vez más inaccesible a la visualización directa. (Figuras n° 52 y 53)

El diámetro del punto de impacto no sufre apenas variaciones con las diferentes potencias aplicadas, manteniéndose entre 500 y 700 micras en todos los casos.



Figura n° 52: Bisel apical tras impactos láser a 5 W de potencia.

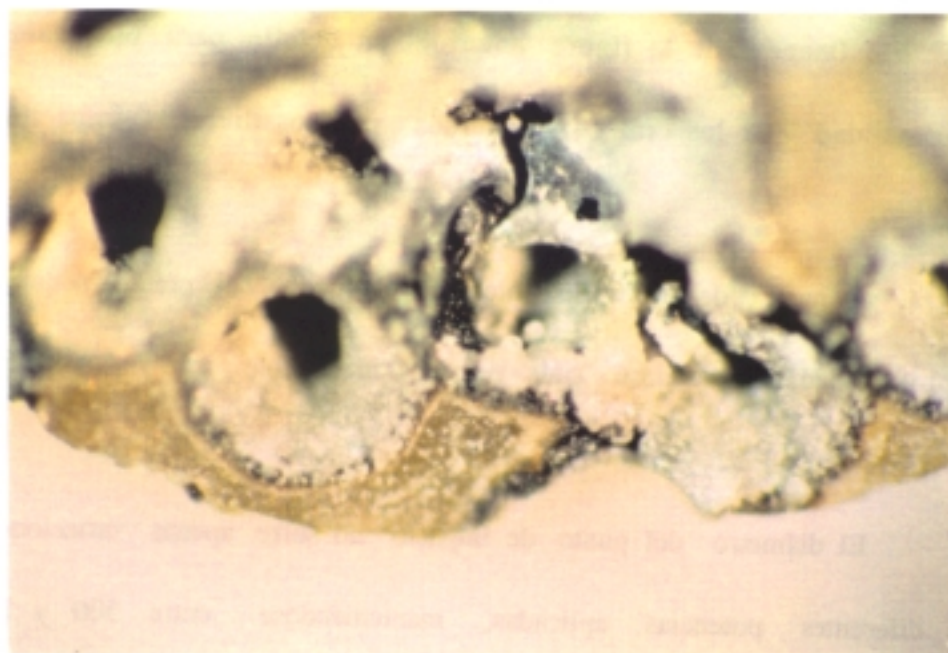


Figura n° 53: Imagen de la figura anterior en detalle para observar la mayor profundidad de los cráteres producidos por los diversos impactos.

Las áreas de cristalización también aumentan a medida que elevamos la potencia láser aplicada, hay mayores extensiones de dentina fundida (Figuras nº 54 y 55), y el número y tamaño de las "perlas" es mayor, adquiriendo en muchos casos imágenes "en concha" y aspecto laviforme, ya que aparecen zonas de tejido cristalizado que caen hacia el interior de los cráteres. (Figuras nº 56 y 57)



Figura nº 54: Bisel apical tras impactos láser a 20 W de potencia.

Obsérvese la yuxtaposición de los impactos y la gran destrucción tisular.

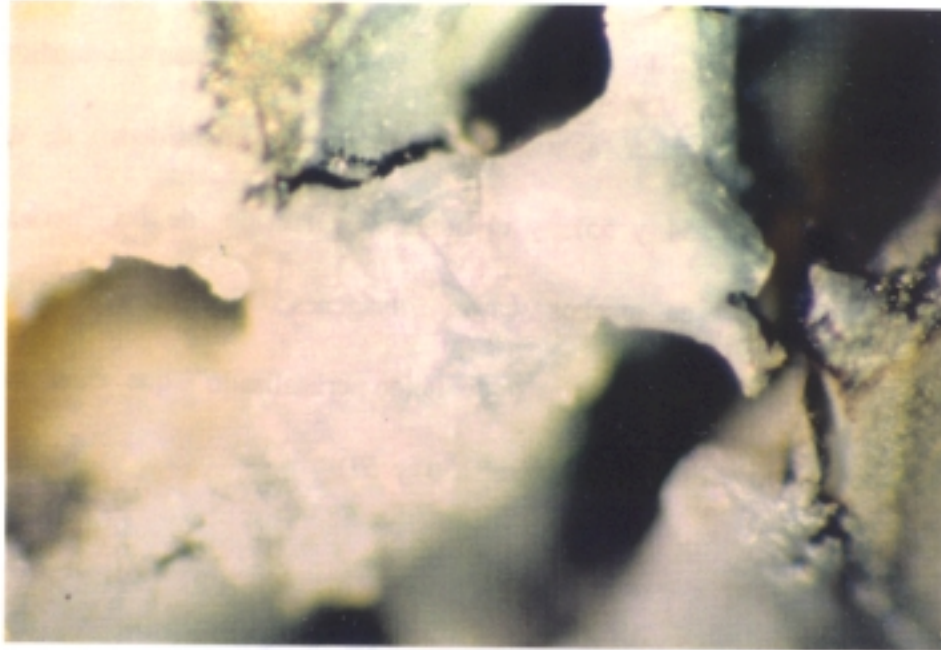


Figura nº 55: Imagen de la figura anterior en detalle para observar la fusión de las placas de vitrificación.



Figura nº 56: Imagen "en conchas" en visión de M.E.B. x 450

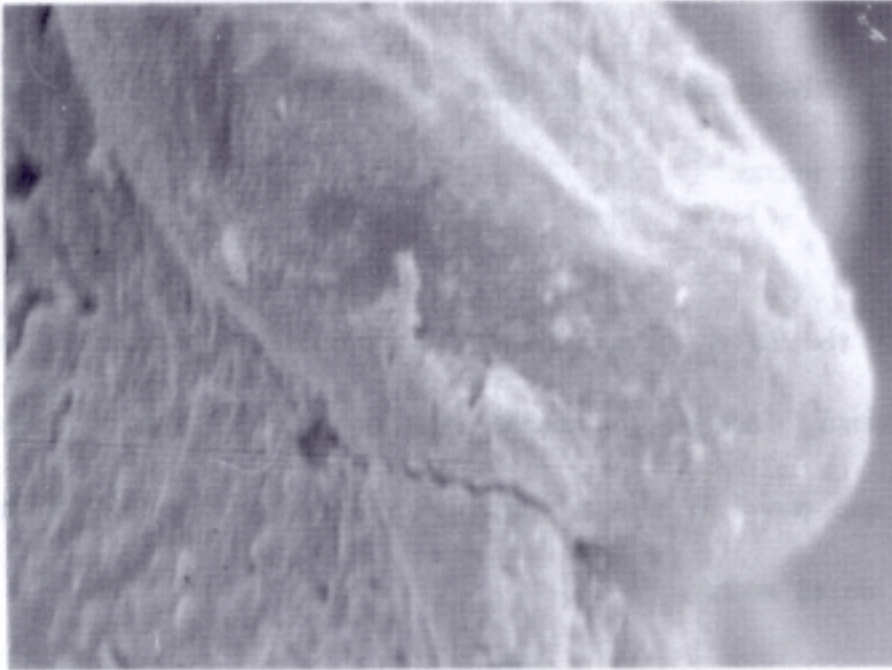


Figura n° 57: Placa de cristalización cayendo hacia el interior de un cráter. M.E.B. x 500.

Mientras que con 1 W de potencia la superficie abarcada por las zonas de cristalización representa entre 12-24 micras, con 20 W aumenta hasta alcanzar 120 micras.

Las áreas de carbonización y rarefacción tisular también aumentan su volumen concéntricamente a las zonas de impacto láser conforme aumentamos la potencia, así mientras que con 1 W de potencia

la zona de carbonización ocupa entre 36 y 48 micras, con 20 W llega a alcanzar 180 micras.

La tercera zona, de rarefacción tisular presenta el mismo comportamiento, aunque con menor variación con las diversas potencias. Mientras que con 1 W alcanza entre 10 y 12 micras, con 20 W supone alrededor de 48 micras.

Sin embargo, a medida que el aumento de la potencia aplicada induce estas modificaciones estructurales, también aumenta la destrucción tisular. La confluencia de diversos cráteres ofrece imágenes abigarradas, con gran superposición de las diversas zonas descritas. (Figuras nº 58 y 59)

En todos los casos y con independencia de la potencia de aplicación, hemos podido evidenciar la presencia del conducto radicular principal, que en ningún caso estaba obturado, ni siquiera parcialmente. (Figuras nº 60, 61, 62, 63, y 64)

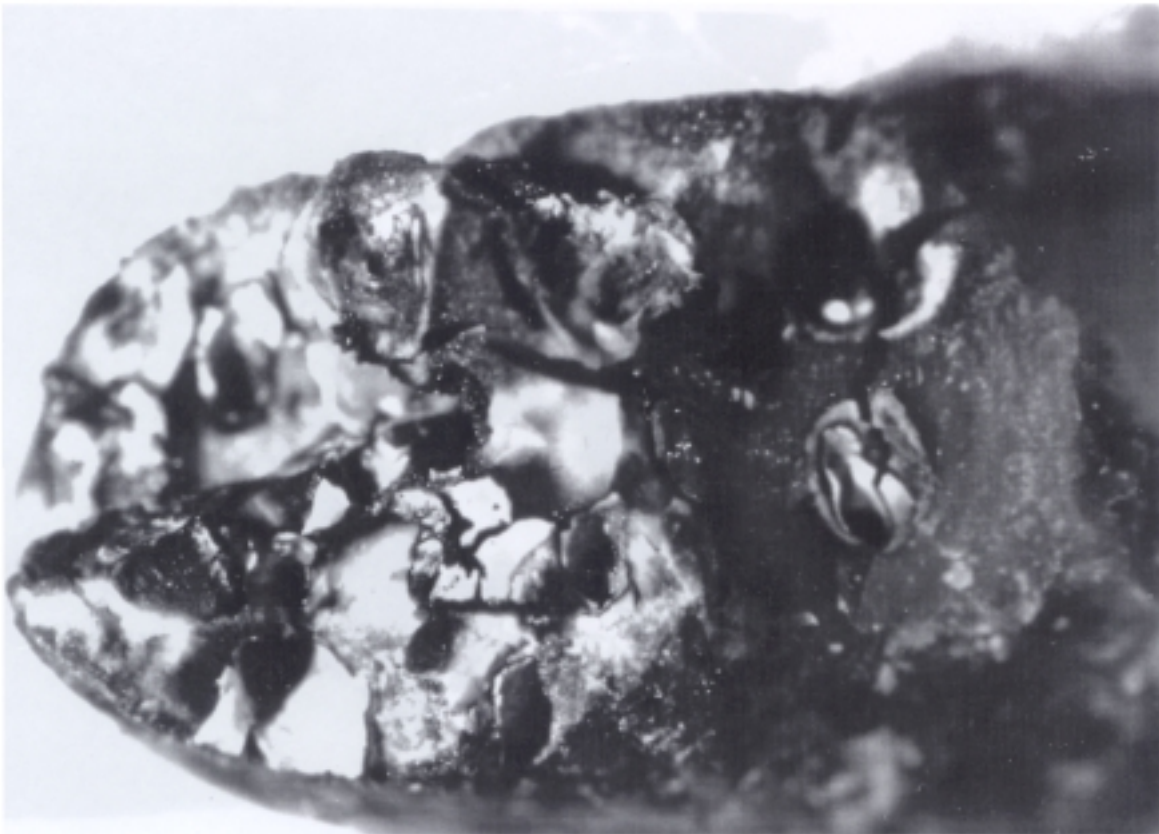


Figura n° 58: Imagen de un bisel apical tras interacción láser a 15 W de potencia. Obsérvese la superposición y anfractuosidad de estructuras.

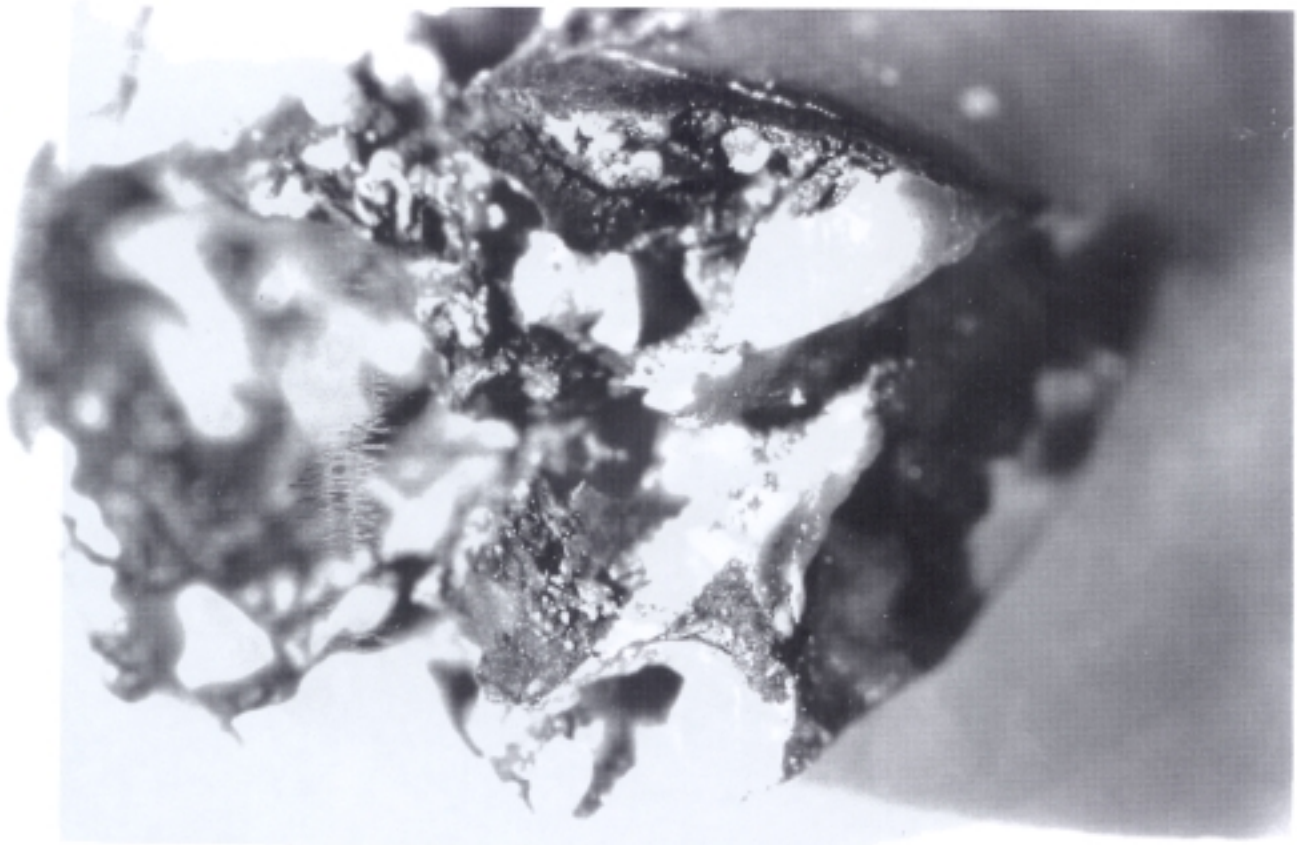


Figura nº 59: Imagen de un bisel apical tras interacción láser a 20 W de potencia. Obsérvese la superposición y anfractuosidad de estructuras.

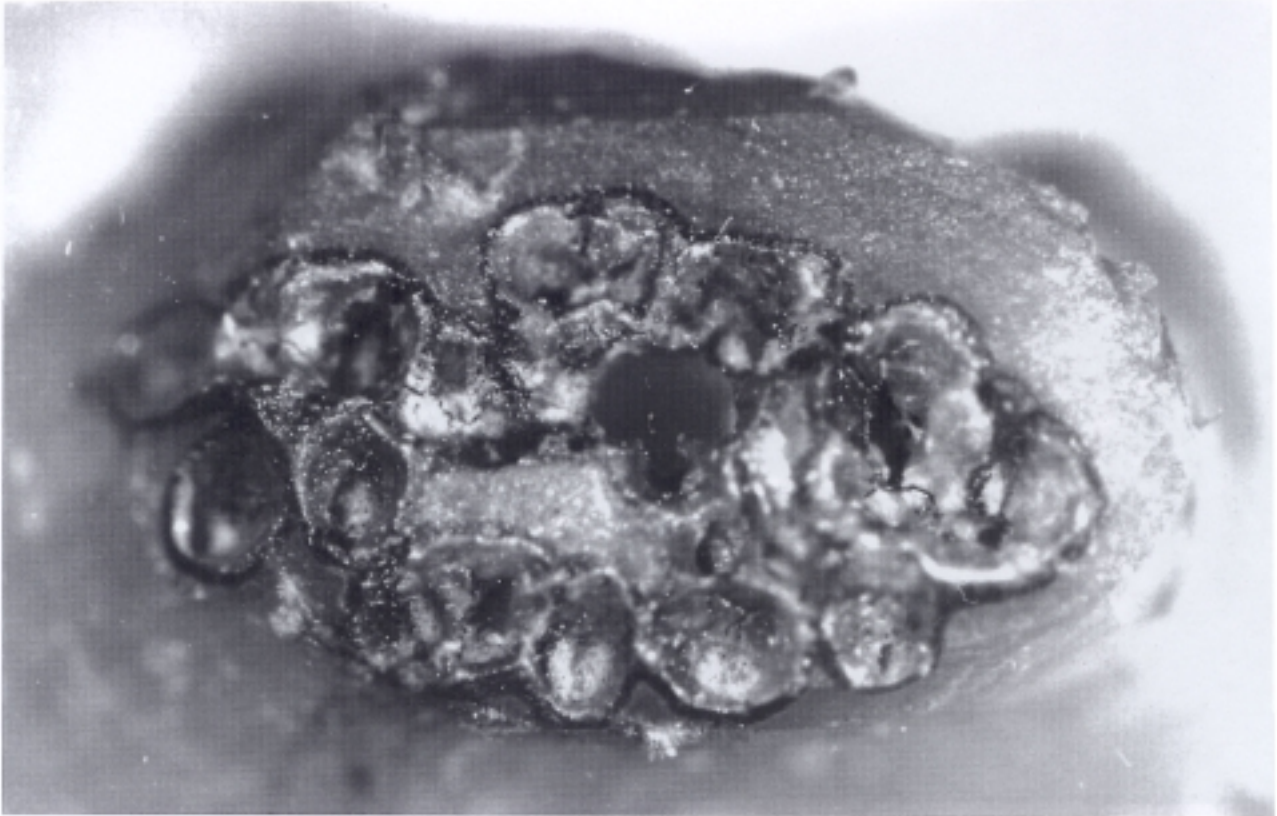


Figura n° 60: Bisel apical tratado con láser a 1 W. Obsérvese el conducto principal permeable.



Figura nº 61: Bisel apical tratado con láser a 5 W. Obsérvese el conducto principal permeable.

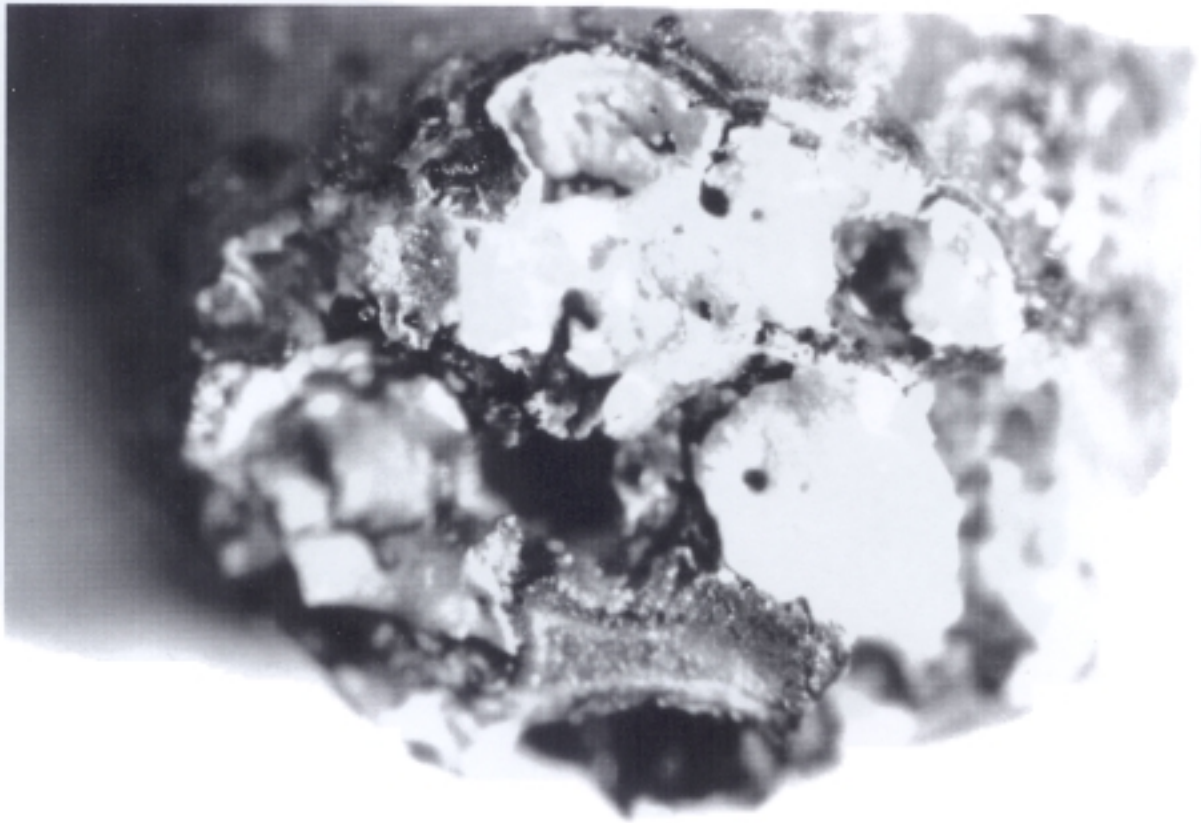


Figura nº 62: Bisel apical tratado con láser a 10 W. Obsérvese el conducto principal permeable.

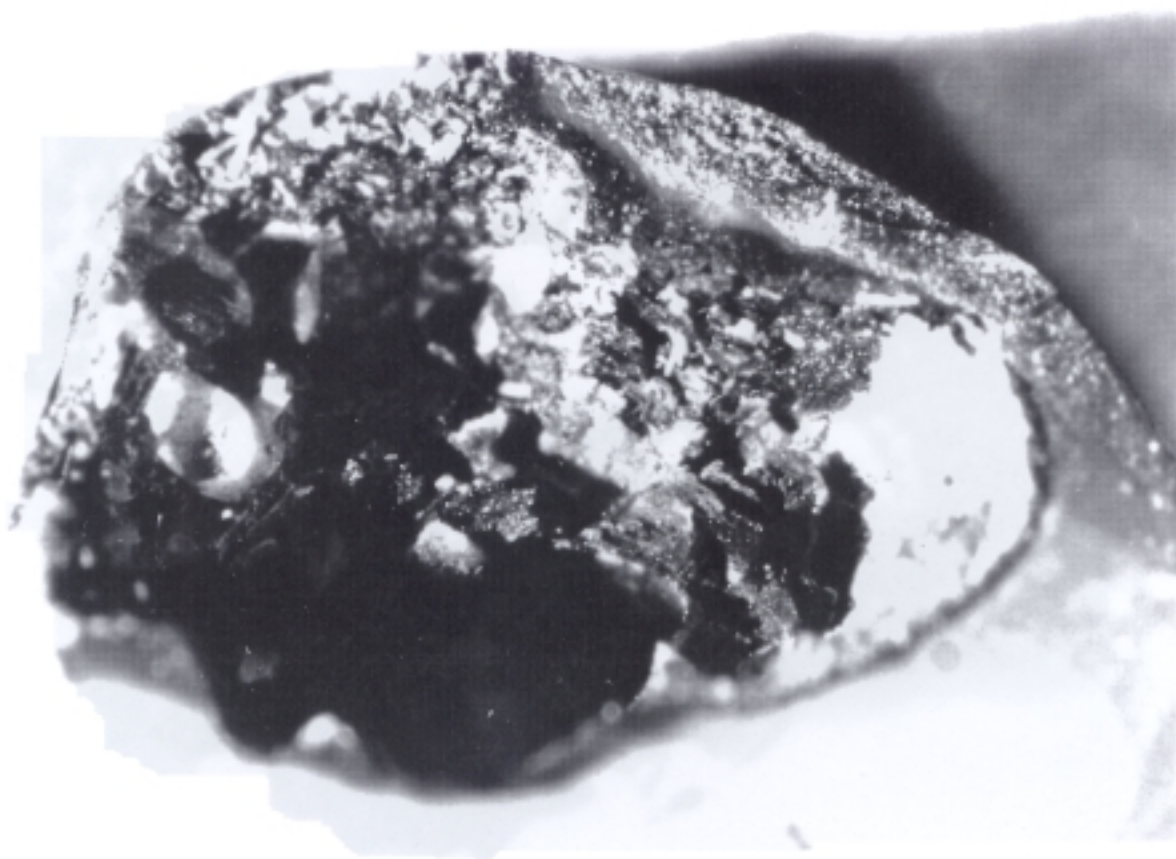


Figura nº 63: Bisel apical tratado con láser a 15 W. Obsérvese el conducto principal permeable.

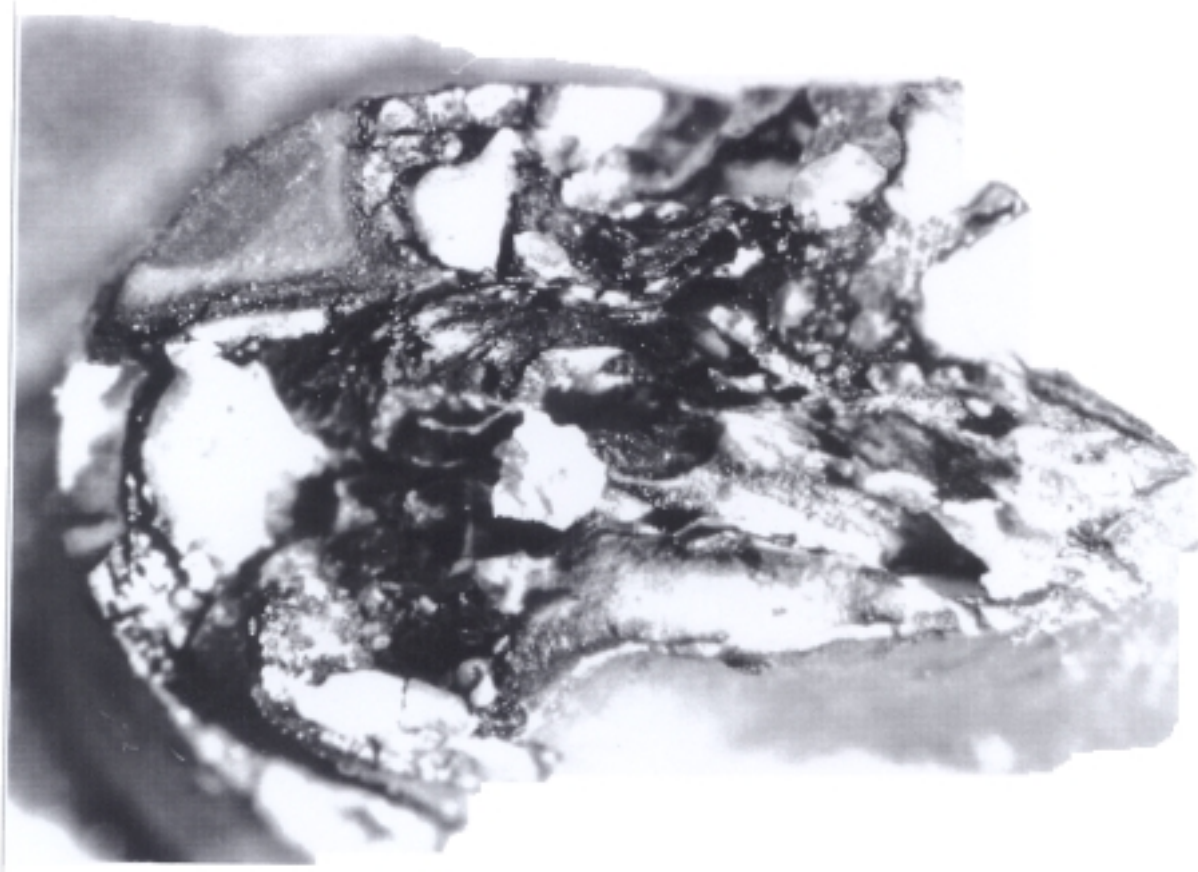


Figura nº 64: Bisel apical tratado con láser a 20 W. Observese el conducto principal permeable.

6.- DISCUSSION.

Los objetivos que nos planteamos al inicio de este estudio, y la planificación y ulterior desarrollo del mismo fueron encaminados a evidenciar dos efectos que la literatura mundial había atribuido al láser CO₂, al actuar sobre las estructuras dentarias.

Por un lado, estudiamos la capacidad esterilizante del láser de anhídrido carbónico, en una primera experiencia in vitro, en la que se utilizaron dos potencias de aplicación diferentes, y en una segunda experiencia in vivo, en la que solo se utilizó una de las potencias, seleccionada en función de los resultados obtenidos en la fase in vitro.

Ambas fases de la experimentación se realizaron mediante estudios microbiológicos que hemos descrito en la metodología; estos fueron encaminados a evidenciar la presencia o no de crecimiento bacteriano, como hecho primordial, tanto en medio aerobio como en medio anaerobio.

Por otro lado, estudiamos la capacidad vitrificante del láser de CO_2 , y también lo hicimos con un estudio en dos fases. En una primera fase quisimos determinar la existencia o no de sellado apical tras la interacción láser con los ápices dentarios, para lo cual desarrollamos una experimentación de índole microbiológica, que describimos en el Método.

En una segunda fase analizamos las modificaciones estructurales producidas en los ápices radiculares mediante lupa estereoscópica y microscopía electrónica.

6.1. Efecto Esterilizante.

A la hora de realizar un estudio de esterilización sobre estructuras biológicas, y especialmente de la cavidad bucal, el manejo de la muestra nos parece algo esencial.

En este sentido estamos de acuerdo con ANDO y HOSHINO 170 en la necesidad de la utilización de cámaras de anaerobios, no solo para la incubación de la muestra, sino para el transporte de la misma, entre el clínico y el laboratorio.

Asimismo, creemos precisa la utilización en todos los casos de medios de ambiente aerobio y medios para ambiente anaerobio bien diferenciados, así como el mantenimiento de los cultivos al menos 72 horas, ya que en la flora bucal existen gérmenes de crecimiento lento que de otra forma pueden pasar inadvertidos.

De la misma manera preferimos la utilización previa al cultivo en placa de un medio líquido de enriquecimiento, en nuestro caso thioglicolato enriquecido con hemina y vitamina K₁, que nos permite recuperar gérmenes de crecimiento lento y gérmenes de difícil crecimiento.

Tanto ANDO Y HOSHINO 170 como IWU y cols. 171 coinciden en que las lesiones apicales de la cavidad bucal presentan alrededor de un 45% de gérmenes anaerobios estrictos, que no podemos determinar si no utilizamos medios específicos para ambiente anaerobio como el Columbia agar sangre anaerobio, medio utilizado por nosotros y en el que coincidimos con IWU y cols.

A la hora de valorar a que potencia mínima conseguimos una esterilización completa de la muestra y máxime cuando revisamos la literatura mundial al respecto, hemos preferido enfrentar dos potencias diferentes en un primer estudio in vitro, 5 y 10 W respectivamente, en irradiación continua mediante un movimiento de vaivén. Simultáneamente realizamos un tercer grupo control, sin tratamiento, para poder valorar adecuadamente los resultados obtenidos.

Para MELCER y cols. 21 22 29 30 32 , LHUISSET 20 , MIRO 26 y otros autores de la escuela francesa, se consigue una completa esterilización sobre estructuras dentarias con la aplicación de una potencia láser CO₂ de 4 W en onda continua.

Para LITOVSKY-OULES y cols. 33 la esterilización de un foco apical se consigue mediante pulsos de 0.1 sg a 4 W de potencia.

Este autor protocoliza la técnica quirúrgica para la eliminación de un foco apical de la siguiente manera:

- 1.- Colgajo convencional.
- 2.- Resección ósea, si es precisa.
- 3.- Volatilización del quiste con láser CO₂ mediante pulsos de 0.1-0.5 sg. entre 5 y 8 W de potencia.
- 4.- Apicectomía con fresa convencional.
- 5.- Interacción ápice-láser mediante pulsos de 0.1 sg a 4 W de potencia para obliteración de conductillos secundarios.

6.- Esterilización de la cavidad con pulsos de 0.1 sg. a 4 W de potencia.

7.- Sutura convencional.

DUCLOS y cols. 169 describen su técnica para lesiones apicales, haciendo especial énfasis en la realización de apicectomías mínimas y en el uso de contraángulos en la cabeza del aparato láser, que permiten una reflexión de la luz hasta de 90 °, facilitando su aplicación.

LITOVSKY-OULES 33 justifica el uso de pulsos, para evitar la aparición de grietas o fisuras dentinarias, que para este autor aparecen cuando se una irradiación láser en onda continua.

ADRIAN y GROSS 34 y HOOKS y cols. 35 realizaron estudios de la capacidad esterilizante del láser CO₂, los primeros sobre instrumentos metálicos y los segundos sobre limas de endodoncia. En ambos estudios se utilizó irradiación láser a 10 W de potencia en onda continua durante 1.5-3 sg, consiguiéndose una completa esterilización, que

se evidenció en el medio de incubación thioglicolato utilizado por ADRIAN y GROSS y en los cultivos de HOOKS y cols.

MISERENDINO ¹⁶⁴ resume las ventajas de la utilización del láser en cirugía periapical en:

- 1.- rápida hemostasia.
- 2.- potencial esterilización del apex radicular.
- 3.- reducción del riesgo de contaminación quirúrgica.

Este autor utiliza 10 W en irradiación continua con 0.25 mm de distancia focal para conseguir la esterilización completa tanto del apex como del área periapical.

En nuestro estudio hemos utilizado onda continua con 0.25 mm de distancia focal y movimientos en vaivén a dos potencias diferentes, 5 y 10 W para la fase in vitro.

El análisis de los resultados nos permitió observar que independientemente de la potencia utilizada el láser tiene efecto esterilizante con una significación estadística $p < 0.0001$.

Al comparar este efecto entre las dos potencias aplicadas observamos que con 10 W el efecto esterilizante alcanza al 97% de la muestra independientemente del tiempo de control, mientras que con 5 W tan solo llega al 16.1% a partir del segundo control a las 48 horas.

Esto nos indica que el efecto esterilizante del láser de anhídrido carbónico sobre las estructuras dentarias es completo y duradero cuando empleamos potencias al menos de 10 W.

Coincidimos con MISERENDINO, ADRIAN y HOOKS en la potencia y en la forma de aplicación de la luz láser.

No conseguimos estos resultados con potencias menores, tal y como describen MELCER y cols., LHUISSET, MIRO, y LITOVSKY-OULES.

Los resultados obtenidos en la segunda fase de nuestra experimentación, sobre esterilización in vivo, se presentan con una potencia única de utilización de 10 W, e indican en parte de la muestra esta capacidad esterilizante de la luz láser.

No podemos establecer una correlación directa entre los resultados obtenidos in vitro y los obtenidos in vivo con 10 W de potencia.

Por una parte, coincidimos con ELI y cols. 172 en la facilidad de contaminación de la zona quirúrgica con gérmenes de la cavidad bucal.

Por otra parte, en nuestro estudio in vivo apareció crecimiento bacteriano después de los primeros controles a las 24 horas en un elevado porcentaje de la muestra que incubamos en ambiente anaerobio.

Los resultados obtenidos que demostraron presencia de crecimiento bacteriano en los tiempos control más tardíos y en las muestras que se incubaron para ambiente anaerobio, una vez sometidos a análisis estadístico reflejaron una casi significación ($p < 0.074$).

La identificación de gérmenes resultó compatible con flora oral habitual, fundamentalmente anaerobios facultativos gram positivos.

Es posible que la aparición de crecimiento bacteriano a partir del segundo control en la experimentación in vivo, pueda ser debida a la persistencia de grupos de gérmenes altamente resistentes, y en reducido número, y por lo tanto que precisan un tiempo mayor en medio de incubación para poderse manifestar.

Esto nos indica la necesidad de ampliar la muestra del estudio, así como modificar la forma de recogida de la misma parar confirmar si estos resultados in vivo se deben a contaminación de flora de la cavidad bucal en el momento quirúrgico, o si por el contrario existe un crecimiento de gérmenes del propio foco apical, principalmente de naturaleza anaerobia.

6.2. Efecto vitrificante y de sellado apical.

La posibilidad de que el efecto vitrificante del láser de CO_2 fuera lo suficientemente intenso y homogéneo para conseguir un sellado completo y efectivo del ápice radicular y de los conductillos secundarios animó a multitud de autores a investigar y desarrollar gran cantidad de procedimientos que permitieran demostrar esta posibilidad.

Es en este mismo sentido en el que se han dirigido nuestras investigaciones en este trabajo experimental. Por una parte comprobar macroscópica y microscópicamente las alteraciones estructurales de la dentina radicular bajo la interacción láser, y por otra parte determinar si estas modificaciones inducen o no un efectivo sellado apical.

BONIN y cols. 173 comunican que se produce una disminución de la permeabilidad dentinaria después de su exposición al láser CO_2 .

De la misma forma STABHOLZ y cols 174 hablan de disminución de la permeabilidad, e incluso de sellado apical tras la realización de apicectomías con láser Nd-YAG.

En nuestro estudio el 100% de la muestra analizada permitió la salida de la Rifocina intracanalicular, empleada en la experiencia, al exterior, induciendo un halo de inhibición de crecimiento en las placas de cultivo, tal y como describimos con anterioridad en la metodología del estudio.

No podemos coincidir, por tanto con los resultados de BONIN y cols., ni con STABHOLZ y cols., si bien en este caso los resultados comunicados se obtuvieron con láser Nd-YAG, y no con CO₂.

Cada impacto láser induce la formación de una lesión de aspecto similar a un cráter, tal como hemos visto anteriormente.

En este mismo sentido se manifiestan KANTOLA 137 ,
PIACENTINI y cols. 175 , LOBENE 13 14 , STERN 15 16 , LITOVSKY-
OULES y cols. 176 , y otros muchos autores.

Coincidimos con KANTOLA 137 en la formación de bordes
sobreelevados en los cráteres, con material fundido y condensado.

Asimismo en la aparición de fisuras severas en las zonas de
impacto.

Para FRANQUIN 177 se pueden evitar la aparición de fisuras
dentinarias mediante la desfocalización de los impactos láser.

MERARD 178 opina que la causa responsable de la aparición
de fisuras es el empleo de onda continua, que produce un gran
compromiso térmico en las zonas de impacto.

PIACENTINI 175 informa que es un rápido enfriamiento la causa responsable de la aparición de fisuras. Para SEVERIN 179 cuando el enfriamiento de la dentina es lento no se producen grietas o fisuras.

Autores como LITOVSKY-OULES 176, McMURRAY y cols. 180, y MISERENDINO 164 prefieren la utilización de pulsos cerrados.

En nuestro trabajo hemos utilizado la emisión láser en forma de pulsos a diferentes potencias con tiempos de 0.1 sg. y 0.25 mm de distancia focal, encontrando en los análisis microscópicos de las muestras la aparición de numerosas grietas y fisuras, de forma similar a lo descrito en la literatura con emisión láser en forma continua.

SEVERIN 179 describe una serie de zonas tras la interacción láser CO₂ con la superficie dentinaria:

- 1.- Capa de Vitrificación o recristalización, que abarca entre 30 y 50 micras.
- 2.- Capa de carbonización.

3.- Zona de afectación térmica o ZAT *"heat-affected zone"*.

MELCER y cols. 29 30 describen gran cantidad de grietas y fisuras en la capa de carbonización, así como entre la zona vitrificada y la capa de carbonización, lo que describen como cordón interfusional.

En nuestro estudio se identifican perfectamente cada una de las zonas descritas en las áreas de impacto por estos autores. Coincidimos con MELCER en la aparición de gran número de grietas y fisuras en la capa de carbonización, así como en la aparición de la interfase que denomina cordón interfusional, tal y como se desprende de la imágenes obtenidas con microscopía electrónica de barrido.

Es tamos de acuerdo con la mayoría de los autores en la producción de fusión dentinaria y recristalización, que se produce de forma superficial, por la yuxtaposición de cráteres resultantes de cada punto de impacto láser, cuando utilizamos emisión pulsada.

Asimismo cada placa de cristalización o vitrificación presentan gran homogeneidad, con un aspecto cristalino más o menos organizado.

Los cráteres presentan numerosas fisuras.

No estamos de acuerdo con LITOVSKY para quien los diámetros de los cráteres varían en función de la potencia.

En nuestro estudio el diámetro del impacto láser apenas sufre variaciones con la potencia, manteniéndose entre 500 y 700 micras en todos los casos, y por tanto en relación con el punto focal del aparato láser. Conforme aumentamos la potencia de aplicación lo que si aumenta es la profundidad del cráter dentinario.

Coincidimos con BONIN ³¹ en que el láser CO₂ aplicado sobre cemento radicular a potencias elevadas con tiempos bajos provoca una recristalización o vitrificación. Conforme aumentamos la potencia aumenta la penetración y la extensión de dentina fundida y recristalizada, hasta un límite, a partir del cual se produce una gran destrucción tisular.

MELCER describe la aparición de carbonización de la superficie radicular con puntos brillantes y nacarados en el centro de los impactos utilizando emisión láser en forma continua a 4 W de potencia, hablando de fusión dentinaria completa a partir de 50 W.

En nuestro estudio es apreciable la aparición de recristalización dentinaria ya desde 1 W de potencia, siendo mucho más evidente con potencias mayores entre 10 y 20 W. Asimismo el grado de destrucción tisular aumenta de forma proporcional a la potencia de aplicación, siendo muy importante para las muestras que recibieron impactos láser a 20 W de potencia.

Los estudios de BRUNE 145 comprueban grandes destrucciones tisulares con Densidades de Energía de 200 J/mm^2 .

En cualquier caso y con independencia de la potencia aplicada no se produce una superficie homogénea, y se aprecian túbulos abiertos visibles, en lo que coincidimos con LITOVSKY-OULES.

No coincidimos por tanto, con DEDERICH ¹⁸¹ que sostiene que el láser CO₂ funde la superficie de la pared del canal dentinario, recristalizandose y dando lugar a una superficie continua y no porosa, de aspecto vidrioso.

DEDERICH y ZAKARASIEN ¹⁶⁷ comunican resultados similares con la utilización de un láser de Nd-YAG sobre la pared del conducto dentinario a cielo abierto, con potencia y tiempo suficientes.

En nuestro estudio y mediante la utilización de un láser de CO₂ en emisión pulsada, no hemos conseguido evidenciar recristalización o vitrificación dentinaria en volumen suficiente como para conseguir un sellado completo del conducto principal y los conductillos secundarios a nivel apical.

Los análisis con microscopía electrónica de barrido han puesto en evidencia que las modificaciones estructurales de la dentina apical, presenta grietas y fisuras entre placas de vitrificación en número

importante, así como completa permeabilidad de los túbulos dentinarios y del conducto principal.

Las modificaciones técnicas como la aplicación del láser de CO_2 sobre los conductos radiculares con fibras AgCl ¹⁸², o la utilización de energía láser combinada CO_2 y Nd-YAG ¹⁸³, puede ser la llave para modificar estos resultados en el futuro.

Asimismo, la utilización de materiales que se pueden fundir sobre el ápice radicular mediante aplicación de energía láser puede solventar el problema del sellado.

En este sentido McMURRAY y cols. ¹⁸⁰ describen la utilización de tapones de esmalte o dentina como material fundente para sellado apical, con resultados alentadores, que en el caso del esmaltes alcanzan coberturas de hasta el 99%.

Precisamos, por tanto ampliar los estudios de que disponemos, tanto a nivel de sellado apical como a nivel de esterilización de estructuras

dentarias in vivo, para poder concluir resultados clínicos suficientemente importantes para introducir la terapia láser en los protocolos habituales de eliminación de infecciones apicales.

7.- CONCLUSIONES .

1ª.- El láser de CO₂ presenta capacidad esterilizante in vitro sobre el cemento y dentina radiculares, independientemente de la potencia valorada, en los controles realizados a las primeras 24 horas de incubación.

2ª.- Este efecto esterilizante del láser CO₂ in vitro, no se manifiesta de forma completa para las dos potencias estudiadas a partir de los controles realizados a las 48 horas; Con 5 W de potencia se presenta crecimiento bacteriano en un porcentaje estadísticamente significativo de la muestra.

3ª.- Con 10 W de potencia, la capacidad esterilizante del láser CO₂ in vitro, alcanza cifras cercanas al 100% y que se mantienen inalterables en todos los tiempos control.

4ª.- No podemos correlacionar los resultados obtenidos en la experimentación in vitro con los obtenidos en la fase in vivo.

5ª.- El láser de CO_2 no tiene capacidad de sellado apical efectivo in vitro, cuando utilizamos 10 W de potencia de aplicación.

6ª.- El uso de potencias más elevadas (15 W) tampoco permite lograr un sellado completo del ápice radicular in vitro.

7º.- El efecto vitrificante del láser CO_2 sobre la dentina radicular se manifiesta en placas y no de forma homogénea.

8º.- No existen diferencias significativas en las modificaciones estructurales de la dentina radicular con las diferentes potencias utilizadas.

9º.- Estas modificaciones estructurales inducidas en el ápice radicular por el láser CO_2 no son suficientes para conseguir un sellado apical completo y efectivo, de manera que los conductos secundarios y el conducto radicular principal presentan su luz completamente permeable.

8.- BIBLIOGRAFIA.

VERIFICADA EN EL DIA DE HOY LA LECTURA DE LA TESIS

TITULADA ANALISIS EXPERIMENTAL DE LA

ACCION FERTILIZANTE Y VITRIPLICANTE
DEL CAIER DE CO2 SOBRE LAS ESTRUCTURAS DENTARIAS
DE LA QUE ES AUTOR DON.....

ITAZIANO DEL CANTO PINA BARRON

OBTUVO POR ^{UNANIMIDAD} MAYORIA LA CALIFICACION DE APTO. CUIT LAUDE POR
UNANIMIDAD

Madrid, 6 de 17 AYO de 19 94

El Presidente,

El Vocal,

El Vocal,

El Vocal,

El Vocal Secretario,

- 1.- MAIMAN, T.H.; Stimulated optical radiation in ruby. Nature, 1960. 187: 493-494.
- 2.- JAKO, G.J.; Láser surgery of the vocal cords: an excellent study with carbon dioxide láser on dogs. Laryngoscope, 1972. 82: 2204-2216.
- 3.- KAPLAN, I.; GER, R.; Partial mastectomy and immunoplasty performed with CO₂ láser. Br. J. Plast. Surg. 1973. 26:363.
- 4.- BELLINA, J.H.; Láser in Gynecology. Láser in Surgery and Medicine. 1985. S: 1-22.
- 5.- MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; Estudio clínico-morfológico en el postoperatorio del tercer molar inferior tras la irradiación láser con He-Ne. Tesis Doctoral. U.C.M. 1988.
- 6.- MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; SADA GARCIA-LOMAS, J.M.; CARRILLO BARACALDO, J.S.; DONADO, M.; Aplicaciones del láser de He-Ne en el trismo. Estomodeo. 1987. 24(II):14-17.
- 7.- DONADO, M. y cols.; Aplicaciones de los rayos láser de baja potencia en Cirugía Oral: Estudio clínico y experimental. Trabajo de investigación para concurso-oposición a cátedra. U.C.M. 1985.
- 8.- CARRILLO, J.S.; MANZO, F.J.; CALATAYUD, J.; MARTINEZ, J.M.; DONADO, M.; Evaluación de la eficacia del láser de He-Ne en el dolor y la inflamación tras la extracción quirúrgica del cordal inferior. Congreso Láser España. Tarragona. 1987.
- 9.- CASTEL, M.F.; Low-power láser in phisiotherapy. Abstract book. First Canadian. Abril 1988. 26-28. pp 3-9. Toronto.
- 10.- DEYMES, J.; 5 années d' utilisation du láser CO₂ en chirurgie stomato et maxillofaciale: résultats de 320 cas. Rev. Odonto-stomatol., Midi Fr., 1984. 42(4): 201-206.

-
- 11.- PATTEL, citado por MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; Láser CO₂: Estudio experimental. Tesina de Licenciatura. Facultad de Veterinaria. U.C.M. 1987.
 - 12.- MYERS, T.D.; El Láser en Odontología. Oral Health. 1992. 81(8):11-16.
 - 13.- LOBENE, R.R.; FINE, S.; Interaction of láser radiation with oral hard tissues. J. Pros. Dent. May-June 1966. 16(3):589-597.
 - 14.- LOBENE, R.R.; BHUSSRY, B.R.; FINE, S.; Interaction of carbon dioxide láser radiation with enamel and dentine. J. Dent. Res. March-April 1968. 47:311-317.
 - 15.- STERN, R.H.; SOGNAES, R.F.; Láser beam effect on dental hard tissues. J. So. Calif. Dent. Assn. 1964. 23:17-19.
 - 16.- STERN, R.H.; SOGNAES, R.F.; Láser effect on dental hard tissues. A preliminary report. J. So. Calif. Dent. Assn. 1965. 33: 17-19.
 - 17.- STERN, R.H.; SOGNAES, R.F.; GOODMAN, F.; Láser effects on in vitro enamel permeability solubility. J. Amer. Dent. Ass. 1966. 73:838:843.
 - 18.- STERN, R.H.; RINGER, H.L.; HOWELL, F.V.; Láser effects on vital dental pulps. Br. Dent. J. July, 1969. 1:26-28.
 - 19.- STERN, R.H.; WAHL, J.; SOGNAES, R.F.; Láser enamel ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide láser effects. J. Dent. Res. 1972. 51(2):455-460.
 - 20.- LHUISSET, F.; Effects d'impacts de láser CO₂ sur les dents. Ligament. 1980. 156:103-105.
 - 21.- MELCER, J.; Láser en Odontologie. Étude des effets thermiques du láser CO₂ sur la dentine et la pulpe. Thèse d'Etat en Odontologie. Paris V. 1985.

-
- 22.- MELCER, J.; OUHAYOUN, M.; Le laser chirurgical à gas carbonique en odonto-stomatologie. Encycl. Méd. Chir. (Paris, France). Stomatologie I, 1986. 22020 L10, 9, 8p.
- 23.- ANDREANI, J.F.; DELLAVOIR, A.; GOLD, D.; DANDRAN, J.P.; L.A.S.E.R. à CO₂ et cavité buccale. Actualité Odonto-Stomatologique, 1986. 153:99-106.
- 24.- MISERENDINO, L.J.; NEIBURGER, E.J.; WALIA, H.; LUEBKE, N.; BRANTLEY, W.; Thermal effects of continuous wave CO₂ laser exposure on human teeth: An in vitro study. Jouenal of Endodontic. July, 1989. 15(7):302-305.
- 25.- BALASTRE, R.; Le laser, état actuel de la recherche en biologie et en médecine. Perspectives d'avenir en Odontologie. Rech. Clin. Odonto-stomatol. 1975. 11(1):16-21.
- 26.- MIRO, L.; Action des lasers sur les tissus compte rendu de la premier journée d'information sur les laser en Odontologie. Nimes. 1984. p 32-44.
- 27.- CHARLOT, F.; VRILLAUD, H.G.; SEVERIN, C.; Le laser CO₂ en chirurgie buccale. Revue d'odonto-stomatologie. 1986. Tome XV. n° 5:365-370.
- 28.- SEUX, D.; JOFFRE, A.; BONIN, P.; MAGLOIRE, M.; Effects du rayonnement laser CO₂ sur l'incisive de souris. Revue d'odonto-stomatologie. 1987. Tome XVI, n° 4:231-235.
- 29.- MELCER, F.; MELCER, J.; DEJARDIN, J.; Apports de laser à CO₂ dans le traitement de la carie dentaire et de ses complications. Actualités Odonto-Stomatologiques, 1987. n° 157:135-142.
- 30.- MELCER, J.; MERLCER, F.; HASSON, R.; MERARD, R.; GAUTIER, J.; Apport du laser à CO₂ dans le traitement des foyers périapicaux. Revue d'odonto-stomatologie. 1982. Tome XI, n° 5:351-355.

-
- 31.- BONIN, P.; DUPREZ, J.P.; PEROL, J.; VINCENT, R.; Analyse comparative de différents lasers sur les tissus durs de la dent en fonction du mode d'application. Analyse des impacts au microscope électronique à balayage. Revue d'odonto-stomatologie. 1985. Tome XIV, n° 1:29-34.
- 32.- MELCER, J.; Apport du laser CO₂ dans la sterilisation de certaines infections d'origine dentaire. Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac. 1982, 83(23):146-151.
- 33.- LITOVSKY-OULES, C; LITOVSKY, B.; MIRO, L.; Experimentation d'un prototype de laser CO₂ en pratique odontologique courante. Actualités odonto-stomatologiques 1988. n° 163:537-543.
- 34.- ADRIAN, J.C.; GROSS, A.; A nex method of sterilization: the dioxide laser. J. Oral Pathol. 1979. 8:60-61.
- 35.- HOOKS, T.W.; ADRIAN, J.C.; GROSS, A.; BERNIER, W.E.; Use of carbon dioxide laser in the sterilization of endodontic reamers. J.Oral.Surg. 1980. 49:263-265.
- 36.- CALATRAVA, L.; Lecciones de patología quirúrgica oral y maxilofacial. Ed. Oteo. Madrid. 1979.
- 37.- DONADO, M.; Cirugía Bucal: Patología y Técnica. Ed. M.D.R. Madrid. 1990.
- 38.- PRIEBE: citado por HARNISCH, H.; Clínica y Terapéutica de los quistes maxilares. Edit.: Quintessence Books. Berlin y Chicago. 1973.
- 39.- EINSTEIN; citado por CAPT, M.; Le soft lasers en médecine dentaire. J.Ad. 1986. 17.
- 40.- SAFFORD, E.L.; Introducción a la fibra óptica y al láser. Ed. Paraninfo. Madrid, 1988.
- 41.- ELOY, J.F.; Láser et optoelectronique. Ed. Masson. Paris, 1985.

-
- 42.- COTTERENT, E.E.; *Laseres: Operación, equipo, uso y asistencia.* Ed. Limasa. Mexico, 1985.
- 43.- CHIOTTE, F.; TAVERES, M.D.; *Láser therapy for ocular tumours.* Segunda sesión sobre terapia de tumores del programa de acción concertado de la C.E.E. de laseres en Medicina. Tarragona. 1989.
- 44.- YAHR, W.Z.; STRULLY, K.J.; *Blood vessel anastomosis by láser and other biomedical applications.* J. Assoc. Adv. Med. Inst. 1966.1:28-31.
- 45.- POLANYI, T.G.; *The física of láser for surgery.* Merrimack Laboratories. Massachussetts, 1749, 1980.
- 46.- EDLICH, R.F.; *Comunicación personal.* Citado por SIMPSON, G.T.; *Hystory of the carbon dioxide láser in otorrynolaringologic surgery.* Otolaringologic Clinics of North America. Novemb 1983. Vol. 16, nº 4,
- 47.- GOODALE, R.L.; *Rapid endoscopic control of bloonding gastric erosions by láser radiation.* Arch. Surg., 1970. 101:211-214.
- 48.- HALL, R.R.; *The healing of tissues incised by a carbon dioxide láser.* Brit.J.Surg. March.1971. 58(3):222-225.
- 49.- STELLAR, S.; LEVINE, N.; LEVENSON, S.M.; *Carbon dioxide láser for excision of burn eschars.* The Lancet. 1971. 945.
- 50.- SVAASAND, L.O.; *Hyperthermia in the treatment of tumours.* Segunda sesión sobre terapia de tumores del programa de acción concertado de la C.E.E. de laseres en Medicina. Tarragona. 1989.
- 51.- NOGUEROL, B.; DONADO, M.; GARCIA, J.A.; RAMOS, J.M.; *Fundamentos físicos generales de los laseres.* Avances en Odontoestomatología. 1986. pag. 283-290.

-
- 52.- CARRILLO BARACALDO, J.S.; MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; SADA G^a-LOMAS, J.M.; DONADO RODRIGUEZ, M.; Parámetros físicos de dosificación de los laseres de baja potencia en estomatología. Estomodeo. 1987. N° 22. II época. 19-31.
- 53.- POLANYI, T.G.; Láser Physics. Otolaringologic Clinics of North America. Nov. 1983. 16(4):753-774.
- 54.- WRIGHT, V.C.; RIOPELLE, M.A.; Láser physics for surgeons. Biomedical Communications. Houston. 1982. pp 37-39.
- 55.- SNITZER, E.; Optical láser action of Nd in Ba crown glass. Phys. Rev. Letter, 1961. 7:444.
- 56.- OUHAYOUN, M.; Le Láser: ses indications et limites en odonto-stomatologie: trouve-t-il sa place en 1983, en pratique quotidienne?. Revue d'odonto-stomatologie. 1984. Tome XIII, n° 4:263-276.
- 57.- SACHS, S.A.; BORDEN, G.E.; The utilization of the carbon dioxide láser in the treatment of recurrent papillomatosis; report of case. J. Oral Surgery. April, 1981. 39:299-300.
- 58.- FISHER, S.E.; FRAME, J.W.; et al; A comparative histological study of wound healing following CO₂ láser and conventional surgical excision of canine buccal mucosa. Archs. Oral. Biol. 1983. 28(4):287-291.
- 59.- MERCER, C.; CO₂ láser training course. Brit. Dent. J. 1988. 86:268-269.
- 60.- TUFFIN, J.R.; CARRUTH, J.A.S.; The carbon dioxide surgical láser. Brit. Dent. J. 1980. 149:255.
- 61.- MARTI, J.A.; CARBONEL, M.A.; Sistemas ópticos interpuestos y la absorción de energía luminosa por parte de los tejidos en la aplicación del láser. B.M. C.D.L. Abril 1986. n° 7.

-
- 62.- BACA PEREZ-BRYAN, R.; Análisis clínico-morfológico de las acciones del láser CO₂ en los tejidos blandos de la cavidad bucal. Tesis Doctoral. U.C.M. 1990.
- 63.- VERSCHUEREN, R.C.J.; Tissue reaction of de CO₂ láser in general. En: Microscopic and endoscopic surgery with the CO₂ láser. Andrews, A.H. and Polanyi, T.G. (Eds.) Bristol, John Wright. 1982.
- 64.- VERSCHEREN, R.C.J.; OLDOHOFF, J.; The carbon dioxide láser: a new surgical tool. Arch. Chir. Neth. 1975. 27:197.
- 65.- ROSSMANN, J.A.; GOTTLIEB, S.; KOUDELKA, B.M.; MCQUADE, M.J.; Effects of CO₂ láser irradiation on gingiva. J. Periodontol. June 1987. Vol. 58 (6): 423-425;
- 66.- ADRIAN, J.C.; Effects of carbon dioxide láser radiation on oral soft tissues: an initial report. Military Medicine. 1979. Vol. 144(2):83-89.
- 67.- MESTER, E.; SPIRY, T.; SZENDE, B.; TOTA, J.G.; Effects of láser rays on wound healing. Am. J. Surgery. 1971. 122:532.
- 68.- BASU, M.K.; FRAME, J.W.; RHYS EVANS, P.H.; Wouns healing following partial glossectomy using the CO₂ láser, diathermy and scalpel: A histological study in rats. The Journal of Laryngology and Otology. April 1988. 102:322-327.
- 69.- FISHER, S.E.; FRAME, J.W.; The effects of the carbon dioxide láser on oral tissues. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 1984. 22:414-426.
- 70.- VINCENT, J.L.; Láser CO₂ et cavité buccale. Encycl. Med. Chir. (París, France). Stomatologie I, 1987. 22020 L10,
- 71.- KAMINER, R.; et al; La Cirugía con láser no produce bacteriemia. J.Oral.Maxillofac. Surg. 1990. 48(1):45-48.
- 72.- PIETTE, F.; Aspects techniques dans l'utilisation des lasers en dermatologie. Journal de Medecine Esthetique. 1983. 10(39): 171-173.

-
- 73.- KLEIN, R.R.; The use of carbon dioxide láser in the plastic surgery. South. Med.J. 1977. 70:429.
- 74.- SLUTZKI, S.; Use of carbon dioxide láser for large excisions with blood loss. Plast. Reconstr. Surg. 1977. 60:250.
- 75.- CARRUTH, J.A.S.; Editorial: lasers in oncology. Clinical oncology. 1984. 10:197-203.
- 76.- NORRIS, C.; MULLARKY, M.; Experimental skin incision made with carbon dioxide láser. Laryngoscope. 1982. 416.
- 77.- JOSSET, P.; SERIS, P.; CHOUARD, C.N.; Étude expérimentale de la cicatrisation de lésions provoquées par le láser CO₂ sur la muqueuse buccale du cobaye. Entretiens de Bichat. Odontologie-Stomatologie, Paris. 1981. 89-93.
- 78.- LUOMANEN, M.; A comparative study of healing of láser and scalpel incision wound in rat oral mucosa. Scand. J. Dent. Res. Feb. 1987. 95:65-73.
- 79.- FINSTERBUSH, A.; ROUSSO, M.; ASHUR, H.; Healing and tensile strength of CO₂ láser incisions and scalpel wounds in rabbits. Plast. Reconstr. Surg. 1982. 70:360.
- 80.- HEALY, G.B.; Complications of láser surgery. Otolaryngol. Clinic. North. Am. 1983. 16:815.
- 81.- FRECHE, C.; DREWSKI, P.; Le láser au CO₂: ses indications dans le traitement des lésions muqueuses oro-pharyngées. Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac. 1982. 83(2/3):144-145.
- 82.- BLANCO JEREZ, L.; Influencia de diversos materiales de sutura en el patrón reparativo de las incisiones de la mucosa bucal realizadas con láser CO₂. Estudio experimental. Tesis Doctoral. U.A.M.. 1991.
- 83.- VRILLAUD, H.G.; Láser CO₂ et chirurgie buccale. Th. Chir. Dent., Reims 1985.

-
- 84.- KEANE, W.M.; ATKINS, J.P.Jr.; CO₂ láser surgery on the upper airway. Surg. Clin. North. Am. 1984. 64:955.
- 85.- FRAME, J.W.; Carbon dioxide láser surgery for benign oral lesions. Br. Dent. J. 1985; 158:125.
- 86.- ABT, E.; WIDGOR, H.; LOBRAICO, R.; CARLSON, B.; HARRIS, D.; PYREZ, R.; Removal of benign intraoral masses using the CO₂ láser. J. Am. Dent. Assoc. Nov. 1987. 115(5):729-731.
- 87.- POGREL, M.A.; The carbon dioxide láser in soft tissue preprosthetic surgery. J. Prosthet. Dent. 1989; 61:203-208.
- 88.- LUOMANEN, M.; The use of CO₂ láser surgery for removal of multiple oral epithelial hyperplasias. Proc. Finn. Dent. Soc. 1989. 85(1):45-46.
- 89.- PECARO, B.C.; GAREHIME, W.J.; The CO₂ láser in Oral and Maxillofacial Surgery. J. Oral. Maxillofac. Surg. 1983. 41:725-728.
- 90.- MODICA, L.A.; Pyogenic granuloma of the tongue treated by carbon dioxide láser. JAGS 1988. 36:1036-1038.
- 91.- BEN-BASSAT, M.; KAPLAN, I.; SHINDEL, Y.; EDLAND, A.; The CO₂ láser in surgery of the tongue. Brit. J. Plast. Surg. 1978. 31: 157-158.
- 92.- MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; CARRILLO BARACALDO, J.S.; SADA GARCIA-LOMAS, J.M.; LLANES HERNANDEZ, F.; DONADO RODRIGUEZ, M.; Eficacia del láser CO₂ en las glossectomías parciales. Avances en Odontoestomatología. 1989. 5: 451-457.
- 93.- AUBERT, H.; DEYMES, J.; LAZARO, P.; Láser CO₂ et plastie gingivale. Chir. Dent. Fr. 1989. 16. 59(460):45-49.
- 94.- PICK, R.M.; PECARO, B.C.; SILVERMAN, C.J.; The use of CO₂ láser for the removal of phenytoin hyperplasia. J. Periodontal. August. 1985. 56:492-496.

-
- 95.- BARAK, S.; KAPLAN, I.; The CO₂ láser in the excision of gingival hyperplasia caused by nifedipine. J. Clin. Periodontal. 1988. 15: 633-635.
- 96.- LUCAS, R.M.; HOWELL, L.P.; WALL, B.A.; Nifedipine induced gingival hyperplasia: a histochemical and ultrastructural study. Citado por BARAK, S.; The CO₂ láser in the excision of gingival hyperplasia caused by nifedipine. J. Clin. Periodontal. 1988. 15: 633-635.
- 97.- HYLTON, R.P.; Use of CO₂ láser for gingivectomy in a patient with Stuger-Weber disease complicated by dilantin hyperplasia. J. Oral. Maxillofac. Surg. Aug. 1986. 44:646-648.
- 98.- ARONOFF, B.L.; The use of lasers in hemangiomas. Láser. Surg. Med. 1981. 1:323.
- 99.- DI BARTOLOMEO, J.; The Argon and CO₂ láser for facial aesthetics. XXIII World Congress of Otolaryngol. Abstracts. 1985. pag. 26-704.
- 100.- KAPLAN, I.; RAIF, J.; The Sharplan carbon dioxide láser in clinical surgery; 7 years experience. The Biomedical Láser. New York. Springer-Verlag Inc. 1981.
- 101.- KAPLAN, I.; GER, G.; SHARON, V.; The carbon dioxide láser in plastic surgery. Br. J. Plast. Surg. 1973. 26:359.
- 102.- SHAFIR, R.; SLUTZKI, S.; BORNSTEIN, L.A.; Effects of buccal hemangioma by carbon dioxide láser. Oral Surg. 1977. 44:347.
- 103.- OHSHIRO, T.; The CO₂ láser in the treatment of cavernous hemangioma of the lower lip. Láser Surg. Med. 1981. 1:337.
- 104.- APPELBERG, D.B.; MASER, M.R.; LASH, H.; WHITE, D.N.; Benefits of the CO₂ láser in oral hemangioma excision. Plastic and Reconstructive Surgery. 1985. 75(1):46-50.

-
- 105.- CLOUET, M.; LAFFITE, F.; CHAVOIN, J.P.; BOUTAULT, F.; COMBELLES, R.; CADENAT, H.; Treatment of buccal mucosa lesions with the carbon dioxide láser. *Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac.* 1986. 87(4):227-232.
- 106.- CHOUARD, C.; et al; Hemostase chez L'hémophile par le láser CO₂. 79 Congrès Français, pag. 147. París. 1982.
- 107.- LEVINE, M.; BAILIN, P.; Carbon dioxide láser treatment of cutaneous hemangiomas and tatoos. *Arch. Otolaryngol.* 1982. p. 236.
- 108.- HEFTI, F.; MORSCHER, E.; KOLLER, F.; Empleo del láser en hemofílicos. *Scand. J. Hahematol.* 1984. 33:281-289.
- 109.- FRAME, J.W.; DAS GUPTA, A.R.; DALTON, G.A.; RHYS EVANS, P.H.; Use of the carbon dioxide láser in the management of premalignant lesions of the oral mucosa. *The Journal of Laryngology and Otology.* Dec. 1984. 98:1251-1260.
- 110.- FRAME, J.W.; Treatment of sublingual keratosis with the CO₂ láser. *Br. Dent. J.* 1984; 156:243.
- 111.- MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; PERIS GARCIA-PATRON, R.M.; BACA PEREZ-BRYAN, R.; BLANCO JEREZ, J.; DEL CANTO PINGARRON, M.; Cirugía láser CO₂ en la eliminación de leucoplasias de la cavidad oral. *Revista Europea de Odontoestomatología.* Nov.-Dic.1993. Tomo V. nº 6:321-328.
- 112.- MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; BACA, R.; DEL CANTO, M.; BLANCO, L.; GOMEZ, R.; DONADO, M.; Frenillos bucales. Nuevo enfoque terapéutico. *Revista Europea de Odontoestomatología.* Nov-Dic. 1991. Tomo III. nº 6:377-382.
- 113.- RIVERO LESMES, J.C.; MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; DEL CANTO PINGARRON, M.; Frenulectomías con fotobisturí láser CO₂ en la práctica ortodóncica. *Revista de Actualidad Odontoestomatológica Española.* Año LIII. Abril 1993. Num. 422:27-33.

-
- 114.- McDONALD, G.A.; SIMPSON, G.T.; Transoral resection of lesions of the oral cavity with the carbon dioxide láser. Otolaryngol. Clin. North Am. 1983. 16:839.
- 115.- MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; DEL CANTO PINGARRON, M.; RIVERO LESMES, J.C.; El fotobisturf láser en el cierre de diastemas. Gaceta Dental. Junio-Julio 1990. N° 9.(14)
- 116.- CHU, F.W.; SILVERMAN, S. Jr.; DEDO, M.M.; CO₂ láser treatment of oral leukoplakia. Laryngoscope. 1988 Feb. 98 (2):125-130.
- 117.- PICK, R.M.; PECARO, B.C.; Use of the CO₂ láser in the soft tissue dental surgery. Lasers Surg. Med. 1987. 7(2):207-13.
- 118.- HORCH, H.H.; GERLACH, K.L.; SCHAEFER, H.E.; CO₂ láser surgery of the oral premalignant lesions. Int. J. Oral Maxillofac. Surg. Feb. 1986. 15:19-24.
- 119.- FLYNN, M.B.; WHITE, M.; TABAH, R.J.; Use of carbon dioxide láser for the treatment of premalignant lesions of the oral mucosa. J. Surg. Oncol. 1988. Apr. 37(4):232-234.
- 120.- RHYS EVANS. P.M.; FRAME, J.W.; BRANDRICK,J.; A review of carbon dioxide láser surgery in the oral cavity and pharynx. The Journal of Laryngology and Otology. January 1986. Vol. 100: 69-77.
- 121.- FRAME, W.J.; Removal of oral soft tissue pathology with CO₂ láser. J. Oral Maxillofac. Surg. 1985. 43:850-855.
- 122.- CARRUTH; J.A.S.; Resection of the tongue with de carbon dioxide láser. The Journal of Laryngology and Otology. June 1982. 96:529-543.
- 123.- CARRUTH; J.A.S.; Resection of the tongue with de carbon dioxide láser: 100 cases. The Journal of Laryngology and Otology. September 1985. 99:887-889.

-
- 124.- PANJE, W.R.; SCHER, N.; KARNELL, M.; Transoral carbon dioxide láser ablation for cancer, tumors, and other diseases. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. 1989. Jun 115(6):681-688.
- 125.- NAGORSKY, M.J.; SESSIONS, D.G.; Láser resection for early oral cavity cancer. Results and complications. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 1987. Sep-Oct. 96(5):556-560.
- 126.- SIDEROV, S.D.; Use of the CO₂ láser in combined maxillofacial operations. Vestn Khir. 1987. Apr. 138(4):49-51.
- 127.- AVELLANEDA, R.; TRASERRA, J.; ALVAREZ, M.; Estenosis laríngea postcirugía oncológica. Tratamiento mediante láser CO₂. Acta ORL 1984. pag. 437.
- 128.- LUOMANEN, M; VIRTANEN, I; Healing of láser and scalpel incision wounds of rat tongue mucosa as studied with cytokeratin antibodies. J. Oral Pathol. 1987. 16:139-144.
- 129.- LUOMANEN, M; MEURMAN, J.H.; Láser induced alterations in rat oral mucosa. Scand. J. Dent. Res. 1986. 94:452.
- 130.- LUOMANEN, M; LEHTO, V.P.; MEURMAN, J.H.; Myofibroblasts in healing láser wounds of rat tongue mucosa. Archs. Oral Biol. 1988. 33(1):17-23.
- 131.- LUOMANEN, M; MEURMAN, J.H.; LEHTO, V.P.; Extracellular matrix in healing CO₂ láser incision wound. J. Oral Pathol. 1987. 16: 322-331.
- 132.- GABBIANI, G.; HIRSCHL, B.J.; RYAN, G.B.; STATKOV, P.R.; MAJNO, G.; Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function. J. Exp. Med. 1972. 135:719-734.
- 133.- RUDOLPH, R.; The fibroblasts and wound repair. Biol. Rev. 1968. 43:51-96.
- 134.- MAJNO, G.; The story of the myofibroblast. Am. J. Surg. Path. 1979. 3:535-542.

-
- 135.- MARTINEZ GONZALEZ, J.M.; Láser CO₂: Estudio experimental. Tesina para la obtención del Grado de Licenciado. Facultad de Veterinaria. U.C.M. 1987.
- 136.- GOLDMAN, L.; GRAY, J.A.; GOLDMAN, J.; GOLDMAN, B.; MEYER, R.; Effects of láser beam impacts on teeth. J. Amer. Dent. Ass. 1965. 70:601-606.
- 137.- SCHEININ, A.; KANTOLA, S.; Láser-induced effects on tooth structure. I. Crater production with a CO₂ láser. Acta Odont. Scand. 1968. 27:173-179.
- 138.- SCHEININ, A.; KANTOLA, S.; Láser-induced effects on tooth structure. II. Microradiography and polarized light microscopy of dental enamel and dentine. Acta Odont. Scand. 1969. 27:181.
- 139.- KANTOLA, S; Láser-induced effects on tooth structure. IV. A study of changes in the calcium and phosphorous contents in dentine by electron probe microanalysis. Acta Odontol. Scand. 1972. 30:463-74.
- 140.- KANTOLA, S; Láser-induced effects on tooth structure. V. Electron probe microanalysis and polarizad light microscopy of dental enamel. Acta Odontol. Scand. 1972. 30:475-84.
- 141.- KANTOLA, S; LAINE, E.; TARMA, T.; Láser-induced effects on tooth structure. VI. X-ray diffraction study of dental enamel exposed to a CO₂ láser. Acta Odontol. Scand. 1973. 31:369-79.
- 142.- KANTOLA, S; Láser-induced effects on tooth structure. VII. X-ray diffraction study of dentine exposed to CO₂ láser. Acta Odontol. Scand. 1973. 31:381-86.
- 143.- KURODA, S.; NAKAHARA, H.; Morphological changes in láser irradiated extracted teeth. J. Dent. Res. 60 (SpecIssue A); Abstrat 719. 1981.

-
- 144.- PALAMARA, J.; PHAKEY, P.P.; RACHINGER, W.; ORAMS, M.J.; The ultrastructure of human dental enamel heattreated in the temperature range 200 °C to 600°C. J. Dent. Res. Dec. 1987. 66(12):1742-1747.
- 145.- BRUNE, D.; Interaction of pulsed carbon dioxide láser beams with teeth in vitro. Scand. J. Res. 1980. 88:301-305.
- 146.- WILLEBORG, G.C.; The evolution of lasers in dentistry. Láser focus/Electro-optics, Oct. 1986. 82-89.
- 147.- LIBERMAN, R.; SEGAR, T.H.; NORDENBERG, D.; SEREBRO, L.I.; Adhesion of composite materials to enamel: Comparison between the use of acid and lasing as pretreatment. Lasers in Surgery and Medecine. 4:323-327.
- 148.- GORDON, T.E.; Some effects of láser impact on extracted teeth. J. Dent. Res. 1966. 45:372-375.
- 149.- YAMAMATO, H.; SATO, K.; Prevention of dental caries by Nd-YAG láser irradiation. J.Dent. Res. 1980. 59:2171-2177.
- 150.- MELCER, J.; CHAUMETTE, M.T.; MELCER, F.; ZEBOULON, R.; HASSON, R.; MERARD, R.; PINAUDEAU, Y.; DEJARDIN, J.; WEILL, R.; Preliminary report on the effect of the CO₂ láser beam on the dental pulp of the macaca mulatta primate and the beagle dog. Journal of Endodontics. January 1985. 11(1):1-5.
- 151.- SHOJI, S.; NAKAMURA, M.; HORIUCHI, M.; Histopathological changes in dental pulps irradiated by CO₂ láser: A preliminary report of láser pulpotomy. Journal of Endodontics. September 1985. 11(9):379-383.
- 152.- POWELL, G.L.; MORTON, T.; LARSEN, A.E.; Pulpal response to irradiation of enamel with continuous wave CO₂ láser. Journal of Endodontics. Dec. 1989. 15(12):581-583.
- 153.- ALLEN, G.W.; ADRIAN, J.C.; Effects of carbon dioxide láser radiation on bone; an initial report. Military Med. 1981. 146:120.

-
- 154.- SMALL, I.A.; OSBORN, T.P.; FULLER, T.; HUSSAIN, M.; KONERNICK, S.; Observations of carbon dioxide láser and bone bur in the osteotomy of the rabbit tibia. J. Oral Surg. March 1979. 37:159-166.
- 155.- CLAUSER, C.; Comparison of depth and profile of osteotomies performed by rapid superpulsed and continuous wave CO₂ láser beams at high power output. J. Oral Maxillofac. Surg. 1986. 44:425-430.
- 156.- CLAYMAN, L.; FULLER, T.; BECKMAN, H; Healing of continuous wave and rapid superpulsed carbon dioxide láser induced bone defects. J. Oral. Surg. Dec. 1978. 36:932-937.
- 157.- PANOSSIAN, B.; Effect du láser CO₂ sur l'os mandibulaire (Etude préliminaire). Ann. Oto-RhinoLaryngo. Chir. Cervico Fac., 198. 101(8):653-655.
- 158.- GUIBELALDE, E.; GOLDMAN, L.; Veinticinco años de experiencia en aplicaciones médicas del láser en Estados Unidos. Una experiencia útil para España. Investigación y Clínica Láser. 1986. Vol. III, nº 4.
- 159.- LOFGREN, L.; Láser surgery and photodynamic therapy. Acta Otolaryngol. (Stockh) 1988; 449:51-52.
- 160.- GRUNG, B.; MOLVEN, O.; HALSE, A.; Periapical surgery in Norwegian Country Hospital: Follow up findings of 477 teeth. J. Endodontics. 1990. 16:411-417.
- 161.- ARIAS DE LUXAN, A.; Retratamiento no quirúrgico por rarefacción lateral tras retratamiento quirúrgico. Endodoncia. 1990. 8:13-18.
- 162.- WEICHMAN, J.A.; JOHNSON, F.M.; Láser use in endodontics: a preliminary investigation. Oral Surg. March. 1971. 31(3):416-420.

-
- 163.- WEICHMAN, J.A.; JOHNSON, F.M.; NITJA, L.K.; Láser use in endodontics: a preliminary investigation. Part. II. Oral Surg. 1972. 34(5):828-830.
- 164.- MISERENDINO, L.J.; The láser apicoectomy: endodontic application of the CO₂ láser for periapical surgery. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1988 Nov. 66(5):615-619.
- 165.- PICK, R.; MISERENDINO, L.J.; Lasers in dentistry: An overview. Láser Medecine and Surgery News and Advances. June 1989. 33:42.
- 166.- ZAKARIASEN, K.L.; BORAN, T.; McDONALD, R.; The Emerging role for lasers in endodontics and other areas of dentistry. Lasers. Scientific. 1990. 83:65-67.
- 167.- DEDERICH, D.N.; ZAKARIASEN, K.L.; TULIP, J.; Scanning electron microscopic analysis of canal wall dentin following Nd-YAG láser irradiation. J. Endodontics. Sept. 1984. 10(9):428-431.
- 168.- ZAKARIASEN, K.L.; DEDERICH, D.N.; TULIP, J.; Nd-YAG láser fusion of dentin plugs in root canals. J. Dent. Res. 1985. 64: 239. Abst. n° 579.
- 169.- DUCLOS, P.; Nueva técnica de tratamiento quirúrgico de las lesiones periapicales utilizando láser a gas carbónico. Rev. Odonto-Stomatol. 1990. 19.
- 170.- ANDO, N.; HOSHINO, E.; Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine. International Endodontic Journal. 1990. 23:20-27.
- 171.- IWU, C.; MacFARLANE, T.W.; MacKENZIE, D.; STENHOUSE, D.; The microbiology of periapical granulomas. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1990; 69:502-505.
- 172.- ELI, I.; JUDES, H.; ROSENBERG, M.; Microbial contamination by a medical carbon dioxide. Lasers in Surgery and Medicine. 1983. 3:39-44.

-
- 173.- BONIN, P.; BOIVIN, R.; POULARD, J.; Dentinal permeability of the dog canine after exposure of a cervical cavity to the beam of a CO₂ laser. J. Endod. 1991. Mar. 17(3):116-118.
- 174.- STABHOLZ, A.; KHAYAT, A.; RAVANSHAD, S.H.; MCCARTHY, D.W.; NEEV, J.; Effects of Nd-YAG laser on apical seal of teeth after apicoectomy and retrofill. J. Endod. 1992 Aug. 18(8):371-375.
- 175.- PIACENTINI, C.; MENGHINI, P.; Note sur les effets du laser CO₂ sur la dentine et le ciment humains. Bull Group Int. Rech. Sci. Stomatol Odontol. 1989. Dec. 32(3):177-183.
- 176.- LITOVSKY-OULES, C.; LITOVSKY, B.; MIRO, L.; Aspect en microscopie electronique a balaye de la dentine exposee a un rayonnement laser CO₂. Actual Odontostomatol. (Paris). 1990. Mar. 44(169):41-52.
- 177.- FRANQUIN, J.C.; SALOMON, J.P.; GOSSING, G.; Nouvelle methode de traitement de la carie dentaire au laser CO₂. L.Q.O.S. 1986. 11:277-287.
- 178.- MERARD, R.; Láser en Odontologie. Evolution du effects thermique dans les tissus dentaires sous flux laser a CO₂. Infom. Dent. 1982. 22:2153-2157.
- 179.- SEVERIN: citado por MERCER, C.; CO₂ laser training course. Br. Dent. J. 1988. 86:268-269.
- 180.- McMURRAY, M.; ZAKARIASEN, K.L.; PATTERSON, S.; DEDERICH, D.N.; TULIP, J.; Comparison of CO₂ laser-fused dentin and enamel root canal plugs. J. Dent. Res. 1986. 65:259.(Abstrat 808).
- 181.- DEDERICH, D.N.; ZAKARIASEN, K.L.; TULIP, J.; Effects of continuous-wave CO₂ laser on canal-wall dentin. J.Dent.Res. 1986. 65:253(Abstrat 755).

-
- 182.- ONAL, B.; SIEBERT, E.T.; Müller, G.; Informe preliminar de la aplicación del rayo láser de CO₂ sobre los conductos radiculares con fibras de AgCl: Estudio con microscopía de barrido y de transmisión electrónica. J. Endod. 1993. 19(6):272.
- 183.- DINSTL, K.; DITTRICH, K.; HÄRB, H.J.; KRIWANEK, S.T.; First clinical experiences in the use of the combilaser (CO₂, Nd-YAG). Segunda sesión sobre terapia de tumores del programa de acción concertado de la C.E.E. de laseres en Medicina. Tarragona. 1989.